Hans Molisch

Mikrochemie der Pflanze

Dritte Auflage

Jena, Gustav Fischer

Ernest Ball
Dept. of Botany,
University of California.
J. R. Trojer

NORTH CAROLINA STATE UNIVERSITY LIBRARIES
S01106305 G

SEP 26 1997

THIS BOOK IS DUE ON THE DATE INDICATED BELOW AND IS SUBJECT TO AN OVERDUE FINE AS POSTED AT THE CIRCULATION DESK.

EXCEPTION: Date due will be earlier if this item is RECALLED

150M/01-92—920179

MIKROCHEMIE DER PFLANZE

VON

DR. HANS MOLISCH
o. ö. PROFESSOR UND DIREKTOR DES PFLANZENPHYSIOLOGISCHEN INSTITUTS
AN DER UNIVERSITÄT IN WIEN

DRITTE, NEUBEARBEITETE AUFLAGE

MIT 135 ABBILDUNGEN IM TEXT

JENA
VERLAG VON GUSTAV FISCHER
1923

Alle Rechte vorbehalten.

Die Mikrochemie muß sich, wo möglich, stets auf die Makrochemie stützen. Nur wenn sich beide gegenseitig fördern, wird man einen genaueren Einblick in den wunderbaren chemischen Bau der Zelle gewinnen.

Vorwort zur 1. Auflage.

Als ich vor 22 Jahren mein Buch „Grundriß einer Histochemie der pflanzlichen Genußmittel", Jena 1891, veröffentlichte, schwebte mir bereits der Plan zu einer Mikrochemie der Pflanze vor. Seit jener Zeit behielt ich den Plan stets im Auge, veröffentlichte zahlreiche einschlägige Spezialuntersuchungen, sammelte Erfahrungen, und auf Grund dieser gewann ich mehr und mehr die Überzeugung, daß eine zusammenfassende Darstellung unserer derzeitigen mikrochemischen Kenntnisse der Zelle, Gewebe und der ganzen Pflanze wünschenswert wäre. Einige Vorarbeiten kleineren Umfanges nach dieser Richtung waren bereits vorhanden: Einen der ersten schüchternen Versuche machte V. A. Poulsen mit seiner „Botanischen Mikrochemie", Cassel 1881. Ein kleines Büchlein in Taschenformat, dazu bestimmt, Studierende bei phytohistologischen Untersuchungen anzuleiten und sie mit den allerwichtigsten mikrochemischen Reaktionen bekannt zu machen. Daran schloß sich das weit verbreitete „Hilfsbuch zur Ausführung mikroskopischer Untersuchungen im botanischen Laboratorium", Braunschweig 1883, von W. Behrens, in dem ein Abschnitt der Mikrochemie der Pflanzenstoffe gewidmet war. Das Ausführlichste aber nach dieser Richtung findet man in A. Zimmermanns vortrefflichem Werke „Die botanische Mikrotechnik", Tübingen 1892, das als der erste Versuch gelten kann, die Mikrochemie der Pflanze etwas ausführlicher zu behandeln. Dieses Buch erlebte, obwohl es ein Bedürfnis war, auffallenderweise keine neue Auflage, wahrscheinlich, weil der Verfasser durch seine Stellung in den Tropen festgehalten war. Es war daher dem Botaniker gewiß sehr willkommen, daß O. Richter (I) sich entschloß, das seit dem Erscheinen von Zimmermanns Mikrotechnik ziemlich angeschwollene mikrochemische Material in einem Sammelreferate übersichtlich zusammenzufassen. Eine ausgiebige Förderung erwuchs der Mikrochemie durch die Arbeiten von Bořicky (I), Haushofer (I), Streng (I, II), Klément et Rénard (I) und namentlich durch das klassische Werk von H. Behrens (I—II), der die mikrochemischen Reaktionen auf einer breiten Basis behandelt. Aber die mikrochemischen Proben, die uns die zuletzt genannten Forscher an die Hand gaben, sind gewöhnlich mit einem Lösungstropfen, Wassertropfen oder mit Mineralien und Gesteinen ausgeführt worden, und es ist die Frage, ob die auf diese Weise erhaltenen Resultate sich ohne weiteres auf die Zelle und Gewebe der Pflanze übertragen lassen. Meiner Meinung nach müssen die Behrensschen Methoden erst von dem Botaniker auf ihren Wert für die Pflanze geprüft werden, denn es ist etwas

ganz anderes, Reaktionen in einem Wassertropfen und in einem Gewebe durchzuführen. Im Wassertropfen liegen die Verhältnisse, da seine Zusammensetzung, auch wenn mehrere Substanzen darin gelöst sind, relativ sehr einfach, im Vergleich zu der höchst komplizierten Zusammensetzung der Zelle. Hier befinden sich viele, vielleicht mehr als hundert Substanzen nebeneinander, darunter viele kolloidaler Natur, die die Reaktionen und insbesondere die Kristallisationen nur allzuhäufig hemmen. In der Überprüfung und in der Anwendung der Behrensschen Ergebnisse auf die Histochemie der Pflanze winkt dem Botaniker eine wichtige und vielfach dankbare Aufgabe, die aber noch größtenteils ungelöst vorliegt. Jedenfalls wurde das Interesse für mikrochemische Untersuchungen durch H. Behrens sehr geweckt und durch Emichs ausgezeichnetes „Lehrbuch der Mikrochemie", Wiesbaden 1911, das sich aber nicht mit der Mikrochemie der Pflanze, sondern mit den allgemeinen Grundlagen der Mikrochemie und, ähnlich wie Behrens, mit der des Tropfens befaßt, noch gesteigert. Bei so vorbereitetem Boden und bei dem allgemeinen Interesse, das man jetzt der Biochemie entgegenbringt, war das Bedürfnis nach einem Werke, das die Mikrochemie der Pflanze in weiterem Umfange auf der Basis der heutigen Erfahrungen behandelt, erwacht, und deshalb habe ich mich zur Herausgabe eines solchen Buches entschlossen. Bei seiner Abfassung war ich bestrebt, das Vorhandene kritisch zu prüfen, die verschiedenen Reaktionen aus eigener Anschauung kennen zu lernen und auf ihren Wert und ihre Brauchbarkeit zu untersuchen — eine Aufgabe, die bei dem großen Umfang des Stoffes nicht leicht zu bewältigen war. Es sollte nicht bloß eine Übersicht gegeben, sondern da, wo noch so viel Unreifes und Zweifelhaftes im Wege stand, Spreu vom Weizen geschieden und, wenn möglich, durch eigene Erfahrung gestützt werden.

Mit Figuren wurde das Buch, um das Verständnis zu erleichtern, reichlich ausgestattet. Man wird hier vergeblich nach alten bekannten Bildern suchen, sondern fast nur Originalfiguren — weit über hundert — finden, die, von einigen Ausnahmen und den Photographien abgesehen, alle von der geübten Hand meines Assistenten, Herrn Josef Gicklhorn, herrühren. Für die große Mühe und die Sorgfalt, die er darauf verwendete, sage ich ihm meinen herzlichsten Dank. Ferner danke ich ihm sowie Herrn Privatdozenten Dr. V. Grafe und Herrn Dr. K. Peche verbindlichst für die Durchsicht der Druckkorrektur. Möge dieses Werk zu neuen Untersuchungen anregen und der Mikrochemie, die in der Zellenlehre der Zukunft sicherlich eine bedeutungsvolle Rolle spielen wird, neue Freunde gewinnen.

Wien, im Mai 1913.

Pflanzenphysiologisches Institut
der k. k. Universität.

Hans Molisch.

Vorwort zur 2. Auflage.

Die 1. Auflage dieses Buches erschien knapp vor dem Ausbruch des Weltkrieges. Sein Export aus Deutschland wurde dann einer Verordnung zufolge, die viele in Deutschland erschienene chemische Bücher betraf, verboten. Wenn das Buch jetzt trotzdem vergriffen erscheint, so muß es doch in weiteren Kreisen Interesse erweckt haben, und deshalb folgte ich gerne der Einladung meines Herrn Verlegers, eine Neuauflage zu besorgen. — Die Mikrochemie schreitet unaufhaltsam vor; ich habe mich daher bemüht, alles, was an exakten, sichergestellten Untersuchungen neu hinzugekommen ist, aufzunehmen, so daß das Werk den neuesten Standpunkt unserer Wissenschaft vertritt. Die wertvollen Untersuchungen Willstätters über das Chlorophyll, die Carotine und die Anthocyane, meine mikrochemischen Untersuchungen, die fortlaufend erschienen sind, die einschlägigen Beobachtungen meiner Schüler und vieler anderer Mikrochemiker wurden, so weit es der dargebotene Raum gestattete, berücksichtigt und durch 18 neue Figuren, die mein Assistent, Herr J. Kisser ausführte, veranschaulicht.

Ich war, das darf ich mit gutem Gewissen sagen, bestrebt, wie in der 1. so auch in der 2. Auflage, das Meiste nicht bloß in gutem Glauben aufzunehmen, sondern selbst auf seine Richtigkeit zu prüfen — eine mühevolle Arbeit, die der Leser kaum ermessen kann, weil oft das Ergebnis tagelanger Arbeit in einer oder wenigen Zeilen Platz fand.

Schließlich gehorche ich einer angenehmen Pflicht, wenn ich meinem verehrten Herrn Verleger, G. Fischer, für sein Entgegenkommen und die ausgezeichnete Ausstattung der Neuauflage herzlichen Dank sage, desgleichen meinen Assistenten, den Herren Dr. G. Klein, Dr. A. Limberger, J. Kisser und H. Brunswik für ihre Hilfe beim Lesen der Korrektur.

Wien, im April 1921.

Hans Molisch.

Vorwort zur 3. Auflage.

Da die 2. Auflage erst vor kurzem erschienen ist und schon jetzt durch eine 3. Auflage ersetzt werden mußte, so waren einschneidende Änderungen nicht nötig. Nichtsdestoweniger habe ich nicht verabsäumt, alles, was an wertvollen neuen Arbeiten erschienen und mir zugänglich war, zu berücksichtigen, so daß das Buch wieder auf den neuesten Standpunkt gebracht wurde.

Für die Besorgung der Korrekturen habe ich meinen Assistenten, dem Herrn Privatdozenten Dr. G. Klein und den Herren Dr. A. Limberger, Dr. J. Kisser und K. Pirschle, auf das herzlichste zu danken.

Besonderen Dank habe ich auch meinem verehrten Herrn Verleger G. Fischer für die ausgezeichnete Ausstattung des Buches zu sagen.

Kaiserl. Universität
Sendai in Japan 1922.

Hans Molisch.

Inhaltsübersicht.

A. Allgemeiner Teil.

Einleitung. Seite

1. Licht- und Schattenseiten der Mikrochemie 3
2. Ergebnisse der Mikrochemie usw. 7

Methodik.

1. Instrumente und Utensilien 13
2. Reagentien 16
3. Die Herstellung eines mikroskopischen Präparates 22
4. Beachtenswerte Winke 24
5. Borodins Methode 24
6. Über den Nachweis der alkalischen und sauren Reaktion des Zelliuhaltes und seiner Teile 25
7. Die Mikrosublimation 28
8. Fluoreszenz 31
9. Das polarisierte Licht 32

Literatur 35

B. Spezieller Teil.

A. Anorganischer Teil.

a) Kationen.

1. Eisen 41
2. Aluminium 44
3. Mangan 46
4. Calcium 48
5. Magnesium 58
6. Kalium 60
7. Natrium 64
8. Ammonium 65

b) Anionen.

1. Sulfation 67
2. Phosphation 70
3. Carbonation 72
4. Silikation 74
5. Chlorion 82
6. Jodion 84
7. Nitration 88

c) Sauerstoff 93

Literatur 98

B. Organischer Teil.

a) Fettreihe.

Seite

I. Alkohole 105
Dulcit 105
Mannit 106
II. Säuren 107
Ameisensäure 107
Oxalsäure 109
Weinsäure 112
Aminosäuren (Asparagin, Leucin usw.) 113
III. Fette 118
IV. Wachs 123
V. Trichomsekrete 124
VI. Kohlehydrate 129
Zucker 130
Inulin 135
Glykogen 137
Anabaenin 139
VII. Schwefelverbindungen 140
Knoblauchöl 140
Senföl 141
Literatur 142

b) Aromatische Reihe.

I. Phenole 146
Eugenol 146
Phloroglucin 146
Asaron 149
Sphagnol 150
II. Säuren 150
Tyrosin 150
Ferulasäure 153
Benzoesäure 153
Betuloretinsäure 155
Zimtsäure 155
Cumarin 156
Methysticinsäure 157
Santonin 158
III. Aldehyde 158
Vanillin 161
IV. Chinone 162
Juglon 162
Lapachol 165
V. Terpene, Harze und Kautschuk 165
VI. Gerbstoffe 172
Literatur 177
VII. Glykoside 181
Frangulin 182
Hesperidin 183
Arbutin 185
Sinigrin 186
Äskulin 187
Coriamyrtin 189
Salicin 189
Coniferin 190
Syringin 191
Baptisin 192
Amygdalin 192

Seite

Saponin 197
Saponarin 198
Glykosid (?) bei Mimosa 200
Myriophyllin 200
Literatur 202

VIII. Pflanzenfarbstoffe 205
1. Flechtensäuren und Flechtenfarbstoffe 205
Allgemeines 205
Über den Nachweis der Flechtensäure in der Flechte selbst . . . 206
a) Flechtensäuren der Fettreihe 209
α) Pulvinsäurederivate 209
Vulpinsäure 209
Calicin 210
Stictaurin 210
Rhizocarpsäure 211
Pinastrinsäure 211
β) Acetylessigsäurederivate 211
Usninsäure 211
b) Flechtensäuren der Benzolreihe 212
α) Anthracenderivate 212
Physcion 213
Solorinsäure 214
Rhodocladonsäure 215
β) Orcinderivate 215
Lecanorsäure 216
c) Nicht kristallisierte Flechtenfarbstoffe 217
Arthoniaviolett 217
Urcellariarot 217
d) Reaktionen nicht kristallisierter Flechtenfarbstoffe 218
2. Pilzfarbstoffe 220
Thelephorsäure 220
Xanthotrametin 220
Chinonartiger Farbstoff 221
Carotinartige Farbstoffe 221
Bacteriopurpurin 221
3. Gelbe und rote Farbstoffe der Phanerogamen aus der Xanthon-, Flavon- und Anthracengruppe 223
a) Xanthon- und Flavonderivate 223
Gentisin 223
Gentiolutein 224
Datiscin 224
Flavonderivate 225
Rutin 226
Scutellarin 227
Hämatoxylin 228
Brasilin 228
b) Anthracenderivate 229
Chrysophansäure 229
Emodin 229
Rheïn 231
Aloïn 231
Morindin 234
Ruberythrinsäure 235
Alkannin 238
4. Indolderivate 239
Indol 239
Skatol 241
Indican 241
5. Farbstoffe der Chromatophoren 247
Chlorophyll 247
Carotine 252
Xanthophyll 252

Seite

Phaeophyll 256
bei Phaeophyten 256
„ Diatomeen 257
„ Neottia 258
Peridineenfarbstoffe 259
Phykoerythrin 259
Phykocyan 262
6. Anthocyane und andere Farbstoffe 264
a) Anthocyan 264
b) Anthophaeïn 270
c) Anthochlor 271
d) Gloeocapsin 273
e) Scytonemin 273
f) Bixin 273
g) Crocin 274
h) Curcumin 276
i) Helichrysin 276
j) Serratulin 277
k) Luteofilin 277
Anhang 277
Chromogen in Schenckia 278
Chromogen in Eupatorium 278
Die schwarze Farbe 279
Literatur 279
IX. Alkaloide 285
Allgemeines 285
Spezielles 289
1. Coniin 289
2. Piperin 289
3. Alkaloide der Solanaceen 290
Nikotin 290
Atropin 290
Hyoscyamin 291
Solanin 291
4. Cocain 294
5. Alkaloide der Leguminosen 295
Cytisin 295
6. Alkaloide der Papaveraceen 295
7. „ von Corydalis 299
8. „ „ Rubiaceen 300
9. „ „ Loganiaceen 301
Brucin 301
Strychnin 302
10. Alkaloide der Ranunculaceen 304
Aconitin 304
11. Berberin 304
12. Hydrastin 307
13. Colchicin 308
14. Veratrumalkaloide 309
15. Alkaloide der Puringruppe 309
Kaffeïn 310
Theobromin 311
16. Alkaloide der Senfsamen 312
17. Taxin 313
18. Alkaloide von Narcissus und Orchideen 313
X. Eiweißkörper 313
Nachweis 314
XI. Fermente 318
1. Diastase 318
2. Oxydasen 319

Seite

3. Cytase 322
4. Myrosin 323
5. Emulsin 325
Literatur 326

C. I. Zellhaut.

1. Die Zellulosegruppe 335
a) Echte Zellulosen 336
b) Hemizellulosen 338
Amyloid 339
Amylomycin 340
Geasterin 340
Usnein 341
2. Chitin 341
3. Verholzte Membranen 343
4. Verkorkte Membranen und die Kutikula 347
Verkorkung 347
Kutikula 350
5. Gummi und Schleime 351
6. Pektinstoffe 354
7. Callose 356
8. Phytomelane 358
Literatur 360

II. Einschlüsse des Kerns, Plasmas und des Zellsaftes.

1. Eiweißkristalle im Kern 365
2. Eiweißkristalle und Eiweißgebilde im Plasma und Zellsaft 368
3. Proteïnkörner 372
4. Stachelkugeln der Characeen 376
5. Einschlüsse der Chromatophoren 377
Proteïnkristalle 378
Leukosomen 379
Pyrenoide 379
Öltröpfchen 382
Stärke 384
6. Florideenstärke 388
7. Paramylum 390
8. Fukosanblasen 391
9. Leukosin 393
10. Zellulosekörner 393
11. Zellulinkörner 394
12. Fibrosinkörper 395
13. Elaeoplasten und Ölkörper 396
bei Monokotylen 396
„ Lebermoosen 397
„ anderen Pflanzen 399
14. Die Filargebilde der Moose 399
15. Irisierende Platten und Kugeln in Meeresalgen 400
16. Augenfleck 401
17. Sogenannte Schleimvakuolen 402
18. Gerbstoffblasen 403
19. Volutin 403
20. Künstliche Fällungen 405
Literatur 407
Autorenregister 414
Sachregister 422

Abkürzungen

der Zeitschriftentitel in den Literatur-Nachweisen.

Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft = Ber. d. Deutsch. Bot. Ges.
Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft = Ber. d. d. chem. Ges.
Biochemisches Zentralblatt = Biochem. Zbl.
Botanische Zeitung = Bot. Ztg.
Botanisches Zentralblatt = Bot. Zbl.
Comptes rendus de l'Academie des sciences = Compt. rend.
Jahresbericht d. Pharmazie = Jahrber. d. Pharm.
Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik = Jahrb. f. wiss. Bot.
Justs botanischer Jahresbericht = Justs bot. Jahrber.
Molischs Beiträge zur Mikrochemie der Pflanze = Molischs Beitr. z. Mikroch.
Österreichische botanische Zeitschrift = Österr. bot. Ztschr.
Pflügers Archiv für die gesamte Physiologie = Pflügers Archiv.
Sitzungsberichte d. Kaiserlichen Akademie d. Wissenschaften in Wien. Mathem.-naturw. Kl. = Sitzber. d. Akad. d. Wiss. i. Wien.
Zeitschrift für analytische Chemie = Ztschr. f. anal. Chem.
Zeitschrift für physiologische Chemie = Ztschr. f. physiol. Chemie.
Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie = Ztschr. f. wiss. Mikroskopie.
Zentralblatt für Bakteriologie usw. = Zbl. f. Bakt.

A.

ALLGEMEINER TEIL

Einleitung.

Die Mikrochemie der Pflanze hat die Aufgabe, sehr kleine Stoffmengen in den Organen, Geweben und Zellen nachzuweisen und womöglich auch gleichzeitig ihre Lokalisation zu ermitteln. Schon mit unbewaffnetem Auge kann man an der Hand mikrochemischer Reaktionen kleine Mengen einer Substanz erkennen, aber viel kleinere noch, wenn man das Auge mit dem Mikroskop bewaffnet. Preßt man aus dem Stengel einer Brennessel (Urtica dioica) einen Safttropfen aus und behandelt man ihn mit einer Lösung von Diphenylamin in Schwefelsäure, so entsteht augenblicklich eine tiefblaue Färbung, die von Salpeter herrührt. Die Nitratmenge, die sich in einem solchen Tropfen vorfindet, ist sicherlich eine sehr geringe, aber die Empfindlichkeit der Reaktion kann außerordentlich verschärft werden, wenn der ganze Vorgang mit dem Mikroskop beobachtet wird, denn dann gelingt es sogar, die Salpetermenge nur einer oder einiger weniger Zellen zu eruieren. Die Empfindlichkeit der Reaktion wird durch die mikroskopische Beobachtung hochgradig, oft um das Tausendfache und noch mehr gesteigert. Wir drücken die Empfindlichkeit einer Reaktion durch die kleinste Substanzmenge aus, mit der die Reaktion noch eben sicher gelingt, und geben diese minimale Menge aus praktischen Gründen nicht in Milligramm, sondern in „Mikrogramm“ = 1 Millionstelgramm = μg oder γ an.

1. Licht- und Schattenseiten der Mikrochemie.

Die Urteile über die Bedeutung der Mikrochemie lauten verschieden. Es gibt begeisterte Anhänger, die diesem Wissenszweig eine bedeutende Zukunft prophezeien und auch das schon Geleistete hoch anschlagen, und dann gibt es Forscher, die den mikrochemischen Ergebnissen sehr skeptisch gegenüberstehen und das Um und Auf einzig und allein in der Makrochemie erblicken. Meiner Meinung nach sind die bisherigen Leistungen der Mikrochemie sowohl auf dem Gebiete der Mineralogie, Petrographie als auch auf dem Gebiete der Biologie äußerst ermutigend, doch muß sich die Mikrochemie, wenn möglich, stets auf die Makrochemie stützen und beide müssen sich gegenseitig in die Hände arbeiten. Auch dürfen die Skeptiker nicht vergessen, daß in zahlreichen Fällen wegen der Kleinheit vieler Organismen, ihrer Seltenheit und der geringen vorhandenen Substanzmengen eine Makroanalyse überhaupt nicht möglich ist, und wir daher vorläufig gezwungen sind, uns mit mikrochemischen Untersuchungen zu begnügen.

Jeder, der sich mit unserer Disziplin beschäftigt, wird bald die Vorzüge ihrer Methodik, aber auch ihre Nachteile kennen und abschätzen lernen. Von diesen Licht- und Schattenseiten soll hier zunächst die Rede sein.

a) Substanzökonomie und Empfindlichkeit. Wer die Kunst versteht, mit wenigem auszukommen und daran seine Freude findet, wird als Mikrochemiker reichlich belohnt werden, denn die Ökonomie, die er sich mit seinem Material gestatten kann, ist eine geradezu erstaunliche. Die Chlorophyllkörner der meisten Pflanzen bilden im Sonnenlichte Stärke in Form von winzigen Körnchen oder Stäbchen, die mit Jod leicht als Stärke nachgewiesen werden können. Überlegt man, daß die Zelle selbst schon ein mikroskopisches Gebilde darstellt, daß das Chlorophyllkorn als Inhaltsbestandteil der Zelle natürlich viel kleiner ist und daß dieses erst wieder die Stärkekörnchen einschließt, so leuchtet die Leistungsfähigkeit der mikroskopischen Methode in unserem Falle ohne weiteres ein. Nach einer Berechnung, die ich angestellt habe, kann man den Kubikinhalt eines im Chlorophyllkorn von Elodea befindlichen kleinen Stärkekörnchens mit 2 μ^3 veranschlagen, was etwa einem Gewicht von 3,4 μg entspricht. Eine so erstaunlich kleine Menge von Stärke kann also an Ort und Stelle in der Zelle noch erkannt werden.

Die Mengen von Chlorophyll, Anthocyan, Carotin, Holzstoff, Zellulose, Suberin und anderen organischen Stoffen, die noch mikrochemisch nachweisbar sind, gehen auf noch kleinere Werte, auf Hundertstel und Tausendstel eines μg und vielleicht noch weiter herunter.

Die für verschiedene Elemente von Behrens (I) ermittelten Empfindlichkeitsgrenzen liegen gleichfalls sehr tief:

Für	Kalium	bei	Fällung	als	Chloroplatinat	bei 0,8 μg
„	Magnesium	„	„	„	Ammonium-Magnesium-phosphat	„ 0,0012 „
„	Calcium	„	„	„	Sulfat	„ 0,04 „
„	Phosphor	„	„	„	Ammonium-Magnesium-phosphat	„ 0,008 „
„	Chlor	„	„	„	Thallochlorid	„ 0,1 „
„	Jod	„	„	„	Jodamylum	„ 0,17 „

Emich (IV, 47) hat durch Einführung der Lackmusseide (vgl. p. 26) als Reagens auf Wasserstoff- und Hydroxylionen die Empfindlichkeit so überaus verfeinert, daß man Tausendstel und Zehntausendstel μg von Salzsäure und Natriumhydroxyd noch nachzuweisen vermag.

Behrens (I, 6) hat empfohlen, bei der Ausführung mikrochemischer Reaktionen mit Lösungen, zu prüfende Substanz und Reagens in möglichst konzentrierter Form anzuwenden, allein Richter (II) kam auf Grund genauer Untersuchungen zu einem anderen Ergebnis. Nach Richter erhält man gerade mit verdünnten Lösungen des Reagens die besten Resultate, weil nicht so sehr die Konzentration maßgebend ist, sondern der Umstand, daß die reagierenden Substanzen im Verhältnis der Verbindungsgewichte verwendet werden.

Beim Nachweis der Stoffe ist uns auch das Lebewesen ein wertvoller Helfer geworden, und dieses Buch enthält eine Reihe von Beweisen, daß die „biologische Methode", d. h. die Verwendung des Lebewesens zum Nachweis von Stoffen in der chemischen Analyse häufig mit den besten gewöhnlichen chemischen und physikalischen Methoden nicht nur zu wetteifern vermag, sondern diese an Empfindlichkeit und Genauigkeit sogar übertrifft. Ich erinnere nur an den Nachweis kleiner Spuren von

Sauerstoff, die von einer einzigen grünen Zelle bei Belichtung erzeugt werden, mit Hilfe sauerstoffempfindlicher Bakterien und der Leuchtbakterien, oder an den Arsennachweis durch gewisse Schimmelpilze, an die oligodynamischen Erscheinungen zum Nachweis von Schwermetallen, z. B. von Kupfer in destilliertem Wasser durch lebende Algen. Hier spielt die außerordentliche Reizbarkeit der lebenden Substanz eine wichtige Rolle, und sie setzt das Lebewesen in den Stand, daß es die leblosen Reaktionsmittel häufig nicht nur übertrifft, sondern sogar noch da Aufschluß gibt, wo diese völlig im Stich lassen (Molisch V).

b) Zeitökonomie. Die mikrochemischen Manipulationen erfordern im Gegensatz zu vielen makrochemischen Untersuchungen gewöhnlich sehr wenig Zeit. Die Prüfung auf Stärke, Zellulose, Verholzung, Verkorkung, Fette, gewisse Elemente und viele andere Körper kann im Verlaufe weniger Minuten durchgeführt werden, was natürlich sehr erwünscht ist. Dazu kommt eine

c) Einfachheit der Methodik, die nicht hoch genug anzuschlagen ist. Aus dem Kapitel „Methodik" (vgl. p. 13) geht hervor, wie einfach die ganze Apparatur des Mikrochemikers ist und wie er mit einer mäßig großen Zahl von Reagentien, die noch dazu nur in sehr geringen Quantitäten erforderlich erscheinen, und abgesehen von einem Mikroskop mit wenigen billigen Glasapparaten und Utensilien, in den meisten Fällen das Auslangen findet. So wie der Japaner sich auf einem erstaunlich kleinen Areal mit Zwergbäumchen, kleinen Felsstückchen, kleinen Wasserbecken und Wasserläufen einen Garten en miniature anlegt, so weiß auch der Mikrochemiker sein Laboratorium auf einem Arbeitstisch von mäßiger Ausdehnung unterzubringen und mit den einfachsten Mitteln in den wunderbaren chemischen Bau der Zelle einzudringen.

d) Lokalisation. Was der Mikrochemie einen ganz besonderen Wert verleiht, liegt in dem Umstande, daß sie uns nicht bloß lehrt, welche Stoffe die Zelle aufbauen, sondern auch, wo diese Stoffe liegen. Denn aus der Lokalisation einer Substanz und aus der Anordnung der Teile innerhalb der Zelle oder Gewebe kann man oft auf den Ort der Entstehung des Körpers, auf die Funktion eines Zellbestandteils und manche andere Beziehungen der Teile zueinander schließen. Man kann passend zwischen lokal und diffus verlaufenden Reaktionen unterscheiden. Lokale Reaktionen zeigen den nachzuweisenden Körper nur an seinem natürlichen Orte an, weil er mit dem Reagens eine unlösliche Verbindung gibt, die an Ort und Stelle verbleibt. Die Jodstärke-, Lignin-, Eisen-Blutlaugensalzprobe und andere der besten mikrochemischen Reaktionen gehören hierher.

Weniger wertvoll sind die diffusen Reaktionen, so genannt, weil der zu diagnostizierende Körper sich bei der Reaktion löst, aus der toten Zelle herausdiffundiert und dann nicht bloß da, wo er ursprünglich lag, sondern im ganzen Umkreis seines Diffusionsfeldes in Erscheinung tritt. Das ist eine Schattenseite einer Reaktion. Die Probe auf Nitrate mit Diphenylamin und die Zuckerreaktionen sind von dieser Art.

Wohl zu beachten sind die falschen Lokalisierungen. Es kann sein, daß das eindringende, zu verdünnte Reagens schon an der Peripherie des Schnittes zur Bildung eines Niederschlages oder einer Färbung (Jodstärke) verbraucht wird und daher im Innern gar nicht mehr wirken kann. Oder der nachzuweisende Körper wird nur außerhalb des Schnittes angezeigt, weil das Reagens überhaupt nicht in

das Gewebe einzudringen vermag. Dies gilt z. B. vom Nachweis des Phosphors mit Molybdänsäure, denn diese befindet sich im Reagens nicht in echter, sondern in kolloidaler Lösung und kann daher in dieser Form nicht diffundieren. Erst wenn die Phosphorsäure aus dem toten Gewebe hervortritt, findet ihre Fällung statt. (LIESEGANG I.)

Auch können im Gewebe Stellen verschiedener Art zufällig Anziehungspunkte für Kristall- oder Niederschlagsbildung werden. Es ist daher oft gar nicht leicht, sich bei der Deutung von Lokalisierungen vor Irrtümern zu bewahren.

e) Die komplexe Zusammensetzung der Zelle trägt zur Schwierigkeit der mikrochemischen Untersuchungen wesentlich bei. Es macht einen großen Unterschied, ob ich den Nachweis eines Körpers in einem Wassertropfen oder in einer Zelle zu führen habe, denn ein Lösungstropfen ist, auch wenn er mehrere Stoffe gelöst enthält, etwas ungemein einfaches im Vergleich zur Zelle. Diese ist, um mit BRÜCKE zu sprechen, ein Elementarorganismus und besteht vielleicht aus hundert und mehr Stoffen, die wir zum Teil noch gar nicht kennen und die auf kleinstem Raume verteilt sind. Da ist die Wahrscheinlichkeit, daß der Eintritt der Reaktion durch einen oder den anderen Körper gehemmt, verhindert oder verschleiert wird, überaus groß. Dazu kommt, das gerade in der Zelle kolloidale Körper dominieren und der Kristallisation der Reaktionsprodukte in den Weg treten.

f) Der Tod der Zelle. In der Regel muß, wenn ein Stoff in der Zelle nachgewiesen werden soll, die Zelle leider getötet werden. Denn die meisten Reagentien stellen Gifte dar, die beim Eindringen in die Zelle das Plasma töten, dadurch die Architektur der lebenden Zelle vernichten, die früher hier eventuell räumlich geordneten Stoffe durcheinander bringen und dadurch auch die Möglichkeit zur Entstehung neuer Körper schaffen. Es muß also — und dies gilt auch für die Makrochemie — stets überlegt werden, ob die Stoffe, die in der Pflanze nachgewiesen werden, auch schon in der lebenden Zelle vorhanden waren oder ob sie erst postmortal entstanden sind. Hierfür ein Beispiel. Die in unseren Gärten allgemein kultivierte Composite, Ageratum mexicanum Sims, enthält, solange sie lebt, kein freies Cumarin; erfriert die Pflanze oder vertrocknet sie, kurz, stirbt sie ab, dann erzeugt sie in ihrem Inneren Cumarin und duftet intensiv danach, während sie in frischem Zustande nicht eine Spur von einem solchen Duft aufweist. Viele Chemiker pflegen die bei der Analyse der Pflanze vorgefundenen Stoffe ohne weiteres auch der lebenden Pflanze zuzuschreiben — mit welchem Rechte, lehrt der Fall Ageratum. In diesen Fehler ist man oft verfallen, und deshalb sei hervorgehoben, daß auch zahlreiche als Genußmittel dienende Pflanzenteile (Tabak, Tee, Kaffee, Senf, Vanille) der uns wünschenswerten Eigenschaften im frischen Zustande zum großen Teil entbehren, und daß sie dieselben erst nach dem Absterben oder nach bestimmten Prozeduren (Gärung, Trocknen, Erhitzen usw.) erhalten (MOLISCH I, 2). Auch manche Farbstoffe und Spaltungsprodukte von Glykosiden entstehen oft erst postmortal, man darf daher das, was man in abgestorbenen Pflanzenteilen findet, nicht gleich auch dem lebenden Organismus zuschreiben.

g) Die Eindeutigkeit gehört zum Ideal einer chemischen Reaktion. Von diesem Ideal sind wir leider weit entfernt, denn eine Probe, die mit Sicherheit nur einen bestimmten Körper anzeigt, gehört

zu den Seltenheiten; in der Regel gehört eine Reaktion mehreren Substanzen an, so daß man aus dem Zutreffen einer Probe nicht gleich auf einen bestimmten Körper schließen kann. Wir besitzen heute kein eindeutiges Eiweiß-, Zucker-, Fett-, Gerbstoff-, Harz- oder Alkaloidreagens, daher muß es sich der Mikrochemiker stets zur Devise machen, sich nicht etwa mit einer Reaktion zu begnügen, sondern möglichst zahlreiche Proben zu machen und neben den chemischen Eigenschaften auch die physikalischen zur Diagnose heranzuziehen.

h) Der Mangel an mikrochemischen Reaktionen für den Nachweis gewisser Körper macht sich auf Schritt und Tritt fühlbar. Wir haben für ein ganzes Heer von Substanzen, man denke nur an die zahlreichen Glykoside und Alkaloide, überhaupt wegen ihrer noch mangelhaften chemischen Erforschung keine Methodik ausgearbeitet, um sie mit Sicherheit in der Zelle zu erkennen. Wir stehen da noch ganz am Anfang, und es wird eines weiteren Ausbaues der Mikrochemie bedürfen, um hier einen Fortschritt anzubahnen.

2. Ergebnisse der Mikrochemie in ihrer Bedeutung für die Anatomie, Physiologie und Systematik der Pflanze.

Trotz der vielen Schattenseiten und dem heute noch vielfach unvollkommenen Zustande der Mikrochemie darf sich diese Disziplin doch rühmen, schon eine Reihe von Errungenschaften aufzuweisen, die sowohl der Botanik als auch der Chemie zugute kommen.

Die Anatomie der Pflanze hat eine wesentliche Vertiefung durch mikrochemische und makrochemische Untersuchungen erfahren, denn diese haben uns gelehrt, welche Stoffe die Zelle und Gewebe zusammensetzen und wie die Stoffe hier angeordnet und verteilt sind. Wir kennen also nicht bloß den Bau, sondern im großen und ganzen auch das Material dieses Baues nach seiner chemischen Seite und auch vielfach die Anordnung der Körper in dem winzigen Raume der Zelle. Das ist aber von großer Wichtigkeit, denn aus dem Orte der Lagerung und der Entstehung einer Substanz kann man oft wichtige Schlüsse ziehen auf die Funktion eines Zellorgans. Wir wissen, daß das Chlorophyllkorn das Organ der Produktion organischer Substanz ist und daß in diesem mikroskopisch kleinen chemischen Laboratorium aus Kohlensäure und Wasser im Lichte Stärke entsteht. Wir wissen dies, weil wir die Stärke unter den Bedingungen der Kohlensäureassimilation im Chlorophyllkorn entstehen sehen und an Ort und Stelle mikrochemisch nachweisen können.

Der Kork hat im Leben der Pflanze eine wichtige Aufgabe zu erfüllen, er ist unter anderem ein ausgezeichnetes Schutzmittel gegen allzu starke Transpiration. Das nähere, tiefere Verständnis dieser physiologischen Leistung datiert aber erst seit jenem Augenblicke, da es gelungen war, mikrochemisch in einer bestimmten Lamelle der Korkzellenwand fettartige Körper festzustellen, die die Membran für Wasser und andere Stoffe schwer durchlässig machen. Dasselbe gilt auch von der Kutikula, die eine ähnliche chemische Zusammensetzung hat wie die Korklamelle.

Auch die Wanderung und die Umwandlung mancher Stoffe kann auf mikrochemischem Wege aufgedeckt werden. Der Übergang von Eiweiß in Aminosäuren, von Zucker in Stärke oder Fett und umgekehrt.

wie er uns bei der Keimung der Samen, Knollen und beim Austreiben der Gehölze entgegentritt, kann unterm Mikroskop beobachtet werden.

Die Mikrochemie darf sich auch das Verdienst zuschreiben, daß sie da, wo die Makrochemie in Anbetracht allzu geringer Substanzmengen versagte, die Natur gewisser Stoffe zuerst aufdeckte. Die Natur des Phykoerythrins und des Phykocyans wurde zuerst mikrochemisch aufgeschlossen; die mikroskopischen Beobachtungen Hanauseks (I) über Phytomelane haben zur Entdeckung einer ungemein kohlenstoffreichen Körpergruppe geführt. Der mikroskopische Nachweis der Holzsubstanz durch Wiesner (II) und der des Suberins durch v. Höhnel (I) haben den Anstoß zur genaueren makrochemischen Untersuchung des Holzes und des Korkes gegeben.

In neuerer Zeit bricht sich auch immer mehr die Anschauung Bahn, daß die Mikrochemie auch bei der Erkennung von vegetabilischen Nahrungs-, Genußmitteln, Rohstoffen und Drogen von Nutzen sein kann, ein Gedanke, der von verschiedenen Forschern (Hanausek, A. Meyer, J. Moeller, Molisch, Nestler, Tschirch, Tunmann, Vogl, v. Wiesner usw.) ausgesprochen oder zur Tat gemacht wurde. „Derartige Untersuchungen dürften aus mehrfachen Gründen von Bedeutung sein, unter anderem deshalb, weil — ganz abgesehen davon, daß hierdurch ein Beitrag zu der noch im Argen liegenden Histochemie der Pflanze überhaupt geschaffen wird — sie dem Chemiker bei der Darstellung gewisser Substanzen willkommene Anhaltspunkte bieten können, die ihm Zeit und Mühe ersparen, und ferner, weil auch dem Mikroskopiker mikrochemische Reaktionen in die Hand gegeben werden, die seine, auf dem anatomischen Befund gestützte Diagnose zu stützen vermögen“ (Molisch I, 1). Treffend sagt auch Tunmann (II, 18): „Mit Recht wird in neuerer Zeit immer wieder von den verschiedensten Seiten darauf hingewiesen, daß in den weitaus meisten Fällen die wirksamen Bestandteile der Drogen in den Zellinhalten liegen, und da ist es nur eine logische Folge, daß auch beim mikroskopischen Studium der Drogen die Zellinhalte mehr Berücksichtigung finden müssen, mit anderen Worten, daß die angewandte Pflanzenmikrochemie weit mehr als bisher in den Vordergrund rücken muß. — Bei der Untersuchung der Pflanzenpulver wird schließlich die angewandte Pflanzenmikrochemie auch entgegen der Ansicht Einzelner immer mehr an erste Stelle rücken, da nur mit ihrer Hilfe bei Materialersparnis ein Urteil über die Beschaffenheit der betreffenden Pulver möglich ist und nur mit ihrer Hilfe Pulver zu diagnostizieren sind, bei denen die jetzt vielfach übliche, zu weit gehende Zerkleinerung die anatomischen Charaktere völlig zerstört hat. Und so wird die Zeit kommen, in der mikrochemische Methoden auch in den Arzneibüchern Eingang finden werden und der Safran nicht mehr der berühmte weiße Rabe sein wird.“

Einen nicht unwichtigen Dienst leisteten die Mikro- und Makrochemie der Pflanzensystematik, indem sie zeigten, daß die Verwandtschaft der Pflanzen sich auch in ihrem Chemismus ausdrücken kann. Darüber haben sich bereits zahlreiche Forscher, Czapek (I, 260), Grafe (I, 423), Greshoff (I), Linné, Rochleder (I, II), Solereder (I, 4), Tammes (I), Thoms (I), Tschirch (I), v. Wettstein (I), v. Wiesner (I), Zellner (I und II), Zopf (I) und andere geäußert.

Es ist nicht meine Absicht, diesen in allgemein naturwissenschaftlicher Beziehung so wichtigen und interessanten Gegenstand ausführlich zu behandeln, sondern es soll nur das, was hauptsächlich die Mikrochemie geleistet hat, mit einigen Worten kurz berührt werden. Die Samen und vegetativen Organe zahlreicher Cruciferen und ihre nächsten Verwandten, die Resedaceen, Capparideen, Tropaeolaceen und Limnanthaceen führen in bestimmten Zellen ein Ferment, das Myrosin, welches das in den Zellen vorhandene Sinigrin in Zucker, Senföl und Kaliumbisulfat zu spalten vermag. Die zwischen den genannten Pflanzenfamilien bestehende Verwandtschaft, die man in der Systematik auf Grund ganz anderer, meist morphologischer Eigenschaften festgestellt hat, erhält durch das Vorkommen der hier so häufig auftretenden Myrosinzellen eine neue Stütze. — Das Inulin ist in der Familie der Kompositen ein ungemein verbreitetes Kohlehydrat, das jedenfalls zu den charakteristischen Eigenschaften dieser so arten- und gattungsreichen Abteilung gerechnet werden darf, wenn es auch in anderen, damit nicht verwandten Familien (Campanulaceen, Lobeliaceen, Goodeniaceen) und sogar bei einigen Monokotylen (Leucojum vernum, Galanthus nivalis) auftritt.

Die Ruberythrinsäure, ein in den unterirdischen Teilen gewisser Rubiaceen vorkommendes Derivat des Anthracens, wurde bisher nur in dieser Familie konstatiert, und ich konnte es speziell in der Reihe der Stellatae überall, wo ich danach suchte, mikrochemisch nachweisen.

Noch einige andere Farbstoffe erscheinen auf ganz bestimmte Familien beschränkt: so das Alkannin auf die Boragineen, das Phykoerythrin und Phykocyan auf die Rot- und Blaualgen und das Skutellarin auf gewisse Labiaten.

Charakteristisch für die Membran der Pilze erscheint das Chitin. Wie die Zellulose bei den meisten anderen Pflanzen das Grundgerüst der Zellhaut bildet, so das Chitin bei den Pilzen. Es kommt zwar Zellulose auch in vielen Pilzmembranen vor, aber das Chitin bildet doch in den genannten Pflanzengruppen den Hauptbestandteil der Membran.

Für die Beschreibung und Erkennung eines Pflanzenobjektes kann nicht bloß die Anatomie des Gewebes, sondern auch die Morphologie seiner Asche herangezogen werden, da das Aschenbild entweder durch sein Zellenskelett oder durch bestimmte Inhaltskörper oder Leitfragmente und ihre bestimmte Anordnung für jede einzelne Pflanzenart sehr charakteristisch ist (Molisch IV).

Dadurch, daß die Zellwände hochgradig verkieseln oder verkalken oder sowohl verkieseln als auch verkalken, bleiben die Gewebe nach ihrer Veraschung in ihrer zellulären Struktur scheinbar so gut erhalten, daß man glaubt, das noch intakte Gewebe vor sich zu haben. Dazu kommen dann häufig noch Haare und verschiedene in der Asche noch wohl erkennbare Inhaltskörper, z. B. mannigfach geformte Kristalle, Zystolithen, Kieselkörper, und zwar oft in so charakteristischer Anordnung, daß man in dem so zustande gekommenen Aschenbild oder Spodogramm einzelne Familien, Gattungen oder Arten erkennen kann.

Man könnte vielleicht einwenden: Wozu benötige ich die Asche, wenn mir das Gewebe zur Verfügung steht? Das Gewebe zeigt doch mehr als die Asche. Gewiß bietet das Gewebe Einzelheiten, z. B. im Zellinhalt, die bei der Veraschung zerstört werden und die daher in

der Asche nicht mehr gesehen werden können, aber anderseits bietet die durch einfaches Verbrennen rasch gewonnene Asche oft in größerer Klarheit und in besserer Übersicht gewisse besondere morphologische Verhältnisse.

Wer einen raschen Überblick über die Verteilung der Zystolithen (Fig. 1) bei den Acanthaceen und Urticaceen haben will, wird ihn leicht und ausgezeichnet an der Hand von Aschenpräparaten gewinnen (Naumann I). Die Gramineen sind durchwegs durch das Vorhandensein der solid verkieselten Kieselkurzzellen (Fig. 2), die Cyperaceen stets durch die eigenartig geformten, verkieselten Kegelzellen (Fig. 3) und viele Orchideen, die Marantaceen, Musaceen und Palmen durch die als Deckplättchen oder Stegmata bekannten Zellen mit bestimmt

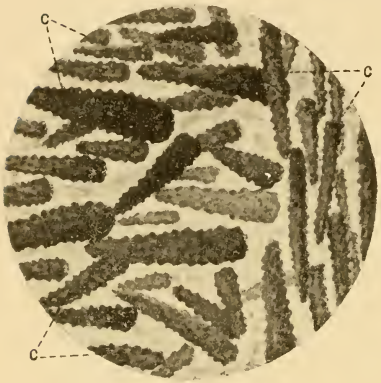


Fig. 1.

Strobilanthes isophyllus. Aschenbild des Blattes. Die Asche besteht großenteils aus maiskolbenähnlichen Zystolithen *c*. Die meisten liegen quer zur Längsachse des Blattes, die oberhalb der Blattnerven befindlichen liegen parallel dem Nerven und sind schmäler.
Vergr. 60.

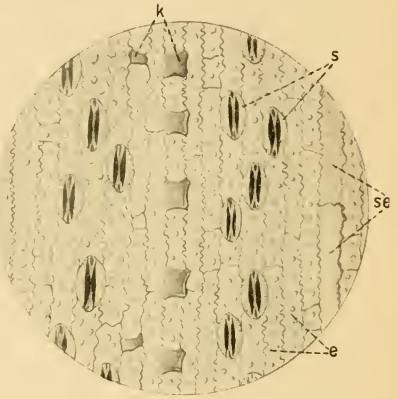


Fig. 2.

Bambusa sp. Aschenbild nach Behandlung der verkieselten Epidermisasche mit Salzsäure. Man glaubt ein intaktes Gewebe zu sehen. *s* Spaltöffnungen, *e* wellig kontourierte Epidermiszellen, von denen manche *se* mit Kieselsäure vollends erfüllt sind, und *k* die Kieselkurzzellen.
Vergr. 285.

geformten Kieselkörpern, manche Familien durch Raphidenbündel oder Kristallsand ausgezeichnet. Ja sogar große und auffallend gestaltete Einzelkristalle von Kalkoxalat können für Vertreter einer ganzen Familie bezeichnend sein, wie die mächtigen Kalkoxalatspieße der Irideen.

Alle diese Leitfragmente treten aber in der Asche mit viel größerer Deutlichkeit und Übersichtlichkeit hervor als im Gewebe, zumal sie bei der Veraschung auf ein kleineres Volum zusammenrücken und so leichter sichtbar werden. Die Zystolithen, Kieselkurzzellen und Kegelzellen stellen einen Familiencharakter dar, der sich in der Asche in besonders prägnanter Weise zu erkennen gibt.

Wenn man die modernen Bücher über Pharmakognosie, Drogen, Nahrungs- und Genußmittel und andere Rohstoffe des Pflanzenreichs durchblättert, so ist hier vom Aschenbild kaum die Rede, und doch würde das Spodogramm die Beschreibung des zugehörigen Objektes in vielen Fällen wesentlich ergänzen und durch die Herbeiziehung des Aschenbildes in vielen Fällen die Erkennung des Objektes sowie die Feststellung seiner Echt- oder Unechtheit sicherlich erleichtern. Ja bei der Diagnostizierung prähistorischer Pflanzenaschen würde die mikroskopische Untersuchung der Asche überhaupt die wichtigsten, wenn nicht sogar die einzigen Erkennungsmittel bieten (Netolitzky III).

Mit anderen Worten: Wie die Form und die Stellung des Blattes, der Bau der Blüte, die Zahl der Staubgefäße und die Form der Samenanlage für diese oder jene Pflanzenfamilie oder Gattung charakteristisch ist, so kann in zahlreichen Fällen auch die Morphologie der Asche oder das Spodogramm einen Hinweis abgeben für die systematische Stellung der die Asche liefernden Pflanze. Dies sollte in Zukunft mehr beachtet werden als dies bisher geschehen ist.

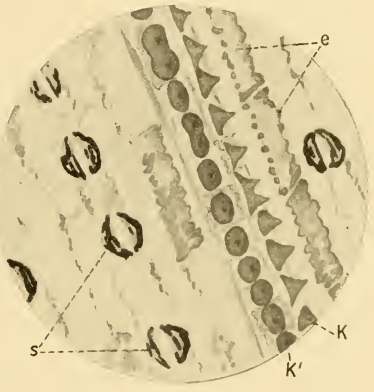


Fig. 3.
Carex silvatica. Blattasche nach Behandlung mit Salzsäure. *e* Epidermiszellen, *s* Spaltöffnungen, *k* Kegelzellen in der Seitenansicht, *k'* Kegelzellen in der Aufsicht. Vergr. 285.

Von nicht geringem Interesse ist die Tatsache, daß gewisse sonst sehr verbreitete Stoffe in bestimmten Bezirken des Pflanzenreichs überhaupt fehlen. Man hat bisher in keiner Diatomee und Cyanophycee Stärke aufgefunden. Keine Diatomee enthält Kristalle von oxalsaurem Kalk. Auch entbehren, wie Wiesner (I) und seine Schüler gezeigt haben, die Algen, Pilze, Flechten und Moose vollends des Lignins. Die Verholzung der Membran hebt erst bei den Pteridophyten an und erscheint dann ausnahmslos bei allen phanerogamen Pflanzen. Auch die Verkorkung taucht erst bei einer gewissen Entwicklungsstufe auf; sie fehlt allen Thallophyten und Moosen und findet sich erst bei einzelnen Pteridophyten vor, um dann bei Blütenpflanzen regelmäßig zu erscheinen.

Den behandelten Fällen treten dann andere gegenüber, die den Anschein erwecken, als ob sie dem Satze von der chemischen Verwandtschaft zusammengehöriger Pflanzen widersprechen würden. Ich erinnere an die Indigopflanzen. Unter den Cruciferen gibt es nur eine einzige Indigo liefernde Gattung, Isatis, den Waid. Der blaue Farbstoff entsteht hier aus einer nicht näher erforschten Indoxylverbindung. Auch bei den nächsten Verwandten der Kreuzblütler taucht nirgends die Muttersubstanz des Indigo auf, und Indikanpflanzen finden

wir erst wieder bei Leguminosen (Indigofera), Orchideen, Apocyneen und Asclepiadeen und hier auch nicht durchwegs bei allen Gattungen, sondern nur bei einzelnen und innerhalb der Gattung oft auch nur bei einzelnen Arten (Molisch II, III). Daraus aber den Schluß zu ziehen, daß die natürliche Verwandtschaft nicht auch auf einer chemischen basiert, wäre voreilig, denn man darf nicht vergessen, daß wir in dem Falle Indigo nur einen einzigen Stoff als Maßstab verwerten. Würden wir die Chemie der Cruciferen nach ihrer gesamten Zusammensetzung bis in die feinsten Details überschauen, so würde sich sicherlich auch hier die Verwandtschaft der Gattungen und Arten in ihrem Chemismus spiegeln. Wenn also eine Gattung einen bestimmten Stoff bildet, eine andere nicht, so darf daraus nicht gleich auf eine tief einschneidende, totale chemische Verschiedenheit geschlossen werden, denn es ist sogar möglich, daß die Cruciferen, wenn auch nicht alle, so doch eine größere Anzahl, eine gemeinsame Vorstufe des Indigoblau enthalten, die aber nur bei Isatis sich bis zum Indigoblau aufbaut. Ich stelle mir die Sache analog vor, wie bei Hämoglobin und Chlorophyll, diesen auf den ersten Blick so verschiedenen Farbstoffen des Pflanzen- und Tierreichs, die aber doch einen gewissen Atomkern gemeinsam haben und damit auf eine einheitliche Wurzel hindeuten. Die Alkaloide geben uns nach dieser Richtung interessante Fingerzeige, worauf Faltis (I) aufmerksam gemacht hat. Die Menispermaceae, Berberideae, Papaveraceae, Fumariaceae und einige andere nahestehende Gruppen führen einige Alkaloide, deren Ähnlichkeit im Bau bereits erkannt ist. Er meint das Papaverin, Narkotin, Berberin, Corydalin, dann Morphin, Codeïn, Thebaïn und zahlreiche andere, deren Konstitution noch nicht ganz klar gelegt ist, die aber sicher hierher zu rechnen sind. Nach Faltis lassen sich alle diese Basen ungezwungen von einer bestimmten gemeinsamen Stammsubstanz ableiten, wodurch die natürliche Verwandtschaft der genannten Familien auch ihren chemischen Ausdruck findet. Dieser Zusammenhang wird um so mehr zutage treten, einen je tieferen Einblick wir in den Chemismus der Pflanze und des Tieres gewinnen werden, und er wird dann auch dort in Erscheinung treten, wo er bisher verschleiert blieb.

Anschließend sei hier noch auf jene zusammenfassenden Werke hingewiesen, die in diesem Buche oft benutzt worden sind und die jeder Mikrochemiker gern zu Rate ziehen wird.

Abderhalden, E., Biochemisches Handlexikon I—IX. Bd. 1911 bis 1915.

Behrens, W., Hilfsbuch zur Ausführung mikroskopischer Untersuchungen usw. Braunschweig 1883.

Behrens, H., Mikrochemische Analyse organischer Verbindungen. Heft I—IV. 1895—1897. Ferner Anleitung zur mikrochemischen Analyse. 2. Aufl. Hamburg und Leipzig 1899 und Mikrochemische Technik. Hamburg und Leipzig 1900.

Behrens, H. — Kley, P. D. C., Mikrochemische Analyse. Leipzig und Hamburg 1915. 1. und 2. Teil.

Czapek, F., Biochemie der Pflanzen. 2. Aufl., I. Bd. 1913, II. Bd. 1920, III. Bd. 1921. Jena.

Donau, J., Die Arbeitsmethoden der Mikrochemie usw. Handbuch der mikrochemischen Technik, herausgegeben von der Redaktion des

„Mikrokosmos“. IX. Teil. 1913/14. Stuttgart, Franksche Verlagsbuchhandlung.
Emich, F., Lehrbuch der Mikrochemie. Wiesbaden 1911.
Euler, H., Grundlagen und Ergebnisse der Pflanzenchemie. 2 Bde. Braunschweig 1908—1909.
Fürth, O. v., I. Vgl. chem. Physiologie d. nied. Tiere. Jena 1903.
Grafe, V., Einführung in die Biochemie usw. Leipzig und Wien 1913.
Meyer, H., I. Analyse und Konstitutionsermittelung organischer Verbindungen. Berlin 1909. 2. Aufl.
Molisch, H., Grundriß einer Histochemie der pflanzlichen Genußmittel. Jena 1891.
Poulsen, V. A., Botanische Mikrochemie. Übersetzt von C. Müller. Kassel 1881.
Richter, O., Die Fortschritte der botanischen Mikrochemie seit Zimmermanns „Botanischer Mikrotechnik“, Sammelreferat. Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie usw. 1905. Bd. XXII. p. 194—261.
Rosenthaler, L., Die chemische Analyse. 19./20. Bd. Der Nachweis organischer Verbindungen. Stuttgart 1914.
Strasburger, E. — Koernicke, M., Das Botanische Praktikum. 5. Aufl. 1913, Jena.
Tschirch, A., Angewandte Pflanzenanatomie. Wien u. Leipzig 1889. — Handbuch der Pharmakognosie. Leipzig 1909—1913.
Tunmann, O., Pflanzenmikrochemie. Berlin 1913.
Wehmer, C., Die Pflanzenstoffe etc. Jena 1911.
Wiesner, J., Die Rohstoffe des Pflanzenreiches. 2. Aufl. 1900 und 1903. Leipzig.
Zimmermann, A., Die Botanische Mikrotechnik. Tübingen 1892.

Methodik.

Die Hilfsmittel, deren der Mikrochemiker bedarf, sind im allgemeinen von verblüffender Einfachheit. Eine kleine Menge Substanz, Bruchteile eines Milligramms, ja oft eine Spur, genügen zur Ausführung einer Reaktion. Die nötige Apparatur läßt gleichfalls an Einfachheit nichts zu wünschen übrig. Abgesehen vom Mikroskop ist bei gewöhnlichen mikrochemischen Untersuchungen das meiste der nötigen Utensilien und Reagentien um einen relativ geringen Preis zu haben, im Gegensatz zu makrochemischen Analysen, die einen viel größeren Aufwand erfordern.

1. Instrumente und Utensilien.

a) Das Mikroskop. Ich beabsichtige nicht, hier eine Theorie des Mikroskops und die Schilderung seiner Handhabung zu geben, da ich beide als bekannt voraussetze. Es sei nur folgendes betont: Das Mikroskop gehört zu den unerläßlichsten und wichtigsten Hilfsmitteln des Mikrochemikers und gestattet bei mehr oder minder starken Vergrößerungen den Verlauf der Reaktion, der Kristallisation, der Lösung und das fertige Reaktionsprodukt oft in der Zelle zu beobachten, was von unschätzbarem Vorteil erscheint. Es ist meist gar nicht notwendig,

mit starken Vergrößerungen zu arbeiten. Eine Vergrößerung von 50 bis 300 reicht gewöhnlich aus. Die Verwendung von Immersionslinsen gehört zu den Seltenheiten. Bei Anschaffung eines Mikroskops wende man sich nie an einen gewöhnlichen Optiker, sondern stets an eine renommierte Firma. Ein Instrument mit 2 bis 3 Objektiven, dem dazu gehörigen Revolver und zwei Okularen wird in der Regel genügen. Eines von den Okularen soll ein Mikrometerplättchen enthalten. Das Stativ soll möglichst einfach gebaut, doch auch zur Aufnahme der Nikolschen Prismen für die Beobachtung im polarisierten Lichte geeignet sein. Man verwende nicht unnötigerweise starke Vergrößerungen, denn mit der Vergrößerung nimmt die Farbenintensität einer Reaktion für das Auge ab, außerdem wird die Fokaldistanz kleiner, womit die Gefahr einer Annäherung der wertvollen Objektivlinse an den Reagenstropfen wächst. Überhaupt ist die Objektivlinse vor Benetzung und Dämpfen möglichst zu bewahren, schließlich nach der Arbeit mit destilliertem Wasser zu reinigen und mit Filtrierpapier und einem feinen Hirschlederlappen trocken zu wischen. Vor Staub ist das Mikroskop durch einen Glassturz zu schützen.

b) Lupe. Eine gute Handlupe, die 5—10mal vergrößert, leistet gute Dienste, wenn es gilt, ein Objekt bei ganz schwacher Vergrößerung im Übersichtsbilde zu beobachten.

c) Objektträger. Man versteht darunter durchsichtige, rechteckige Platten aus Spiegel- oder gewöhnlichem Glas, am zweckmäßigsten 76 mm lang, 26 mm breit und 1—1,5 mm dick. Die meisten mikrochemischen Reaktionen werden auf solchen Objektträgern ausgeführt. Kleinere Formate sind nicht zu empfehlen, weil sonst für die Etiquetten, für die Ausführung der Reaktion und die ganze Handhabung zu wenig Raum übrig bleibt. Für gewisse Reaktionen, z. B. für den Kieselsäurenachweis, wo Fluorwasserstoff, Kieselfluorwasserstoff oder Fluorammonium zur Anwendung gelangen, bedient man sich gefirnister Objektträger. Sie sind mit einer dünnen Schicht Kanadabalsam überzogen. Kanadabalsam wird in einer Abdampfschale so lange erhitzt, bis er sich nach dem Erkalten pulvern läßt. Das Pulver löst sich in Benzin zu einem öligen Firnis, und mit diesem wird der gelinde erwärmte Objektträger übergossen. Man läßt abtropfen und schließlich bei etwa 50° 4 Stunden lang trocknen. Anstatt der gefirnisten Objektträger kann man auch mit Vorteil dünne Platten von nahezu farblosem Zelluloid verwerten, die käuflich zu haben sind (H. Behrens, I, 17).

d) Deckgläschen. Die im Tropfen auf dem Objektträger liegenden Schnitte werden der Klarheit des mikroskopischen Bildes wegen und um die Berührung der Objektivlinse des Mikroskops mit der Präparierflüssigkeit zu verhindern, zumeist mit einem sehr dünnen Glasplättchen, dem Deckgläschen bedeckt. Format 18×18 mm. Dicke für schwächere Vergrößerungen 0,2 mm, für stärkere und stärkste 0,15—0,1 mm und darunter. Man hüte sich, kleinere Formate zu verwenden, denn diese haben verschiedene Nachteile. Für gewisse Zwecke, namentlich bei Gewinnung von Kristallen aus verdünnten Lösungen unterm Deckglas, empfehlen sich größere Formate (20×30 mm), weil unter einem solchen Deckglas mehr Flüssigkeit Platz hat und damit die Wahrscheinlichkeit, Kristalle zu erhalten, wächst.

e) Glasdosen mit und ohne angeschliffenem Falz in verschiedenen Größen. Sie dienen zum Einlegen der Schnitte in bestimmte Flüssigkeiten. Durch die Dosen wird die Verdampfung der Flüssigkeit verhindert und der Staub abgehalten. Es ist zweckmäßig, auch die Objektträger und Deckgläschen in solchen Dosen aufzubewahren, um sie vor Staub zu schützen.

f) Rasiermesser. Der Botaniker führt seine mikrochemischen Untersuchungen meist an Schnitten aus, die mit dem Rasiermesser gemacht werden. Man hält solche mit flacher oder hohler oder unterseits flacher und oberseits hohler Klinge vorrätig.

g) Skalpelle. Handelt es sich darum, an einem harten Objekte, z. B. an einem Holz oder einem Samen eine glatte Schnittfläche zu erzielen, überhaupt das Objekt für die weitere Behandlung zurecht zu schneiden, so bedient man sich kleiner Messerchen, der Skalpelle.

h) Nadeln dienen dazu, die Schnitte vom Rasiermesser auf den Objektträger zu bringen, hier zu ordnen, zu zerzupfen oder in eine Glasdose zu bringen und hier aus einer in die andere Flüssigkeit zu übertragen. Die Präpariernadeln sind gewöhnlich aus Metall und unbeweglich in ein hölzernes Heft gefaßt. Sehr häufig verwendet man anstatt der Metallnadeln Glasnadeln, die man sich nach Belieben durch Ausziehen von Glasröhren oder Glasstäbchen in der Flamme in verschiedener Größe herstellt. Prüft man z. B. Schnitte auf Eisen, so darf man selbstverständlich nicht mit Stahlnadeln arbeiten, da ja durch sie leicht Eisenspuren in die Gewebe hineingelangen können.

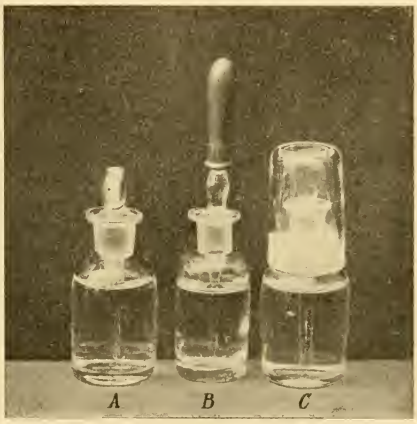


Fig. 4.
Tropfgläser oder Stiftfläschchen.
A mit solidem Glasstift, *B* mit Glasrohrstift und Kautschukkappe, *C* mit solidem Glasstift und Glaskappe. Etwa $^1/_2$ verkleinert.

i) Pinzetten aus Stahl, Messing oder Neusilber, die bei mikroskopischem Arbeiten so häufig benutzt werden, müssen bei mikrochemischem Arbeiten häufig durch Glasnadeln ersetzt werden, um die Gefahr einer Verunreinigung mit einem Metall zu verhindern.

j) Tropf- oder Stiftfläschchen. Gewöhnlich werden die zu prüfenden Schnitte in einen Tropfen der Präparationsflüssigkeit gelegt. Um diesen Tropfen bequem auf den Objektträger zu bringen, bedient man sich der in Fig. 4 abgebildeten Gläschen. Nimmt man den bis fast an die Basis des Gläschens sich erstreckenden Glasstöpselstift (*A*) aus der Flüssigkeit heraus, so bleibt stets ein Tropfen von

annähernd derselben Größe hängen, der dann auf den Objektträger abgestreift werden kann. Anstatt des soliden Glasstiftes gebraucht man auch häufig einen hohlen Glasstopfen, der unten in eine Glasröhre endigt und oben mit einer Kautschukkappe verschlossen ist (*B*). Drückt man diese etwas zusammen, so treten Flüssigkeit und Luft aus dem Röhrchen heraus, bei Loslassen der Kappe aber wieder hinein. Hebt man nun den Stift aus dem Fläschchen heraus, so lassen sich aus der Röhre durch einen Druck auf die Kappe ein, zwei oder mehr Tropfen, je nach Bedarf, auf den Objektträger bringen. Diese Stiftfläschchen gehören zu den wichtigsten Utensilien des Mikrochemikers. Die meisten flüssigen Reagentien werden in solchen Fläschchen untergebracht. Flüssigkeiten, die sich leicht verflüchtigen, Dämpfe entwickeln oder Wasser anziehen, werden mit einer aufgeschliffenen Glaskappe versehen (*C*). Gegenwärtig erhält man auch Tropfgläser aus blauem oder braunem Glas für lichtempfindliche Reagentien. Die Gläschen werden auf einer Glasplatte oder einer glasierten Tonschale aufgestellt und mit einem Glassturz bedeckt.

k) Glasstäbe, Glasröhren, Glaspipetten und Uhrgläser in verschiedenen Dimensionen sollen auf dem Arbeitstisch des Mikrochemikers nie fehlen, da sie häufig benötigt werden. Um mit relativ sehr kleinen Reagenströpfchen zu arbeiten, eignen sich sehr schmale Pipetten, Kapillarpipetten von 0,2—1 mm innerer Breite, die man durch Ausziehen in der Flamme leicht herstellen und nach dem Gebrauch wegwerfen kann. Mit so kleinen Tröpfchen, wie man sie aus derartigen Kapillaren erhält, kann man ein und dasselbe Mikrosublimat vielfach prüfen und so mit einem Minimum von Substanz viele Reaktionen durchführen.

l) Filtrierpapierstreifen leisten treffliche Dienste, wenn es gilt, Flüssigkeiten unter dem Deckglas abzusaugen oder Flüssigkeitsströmungen zu erzeugen, um den Schnitt mit einem Reagens rascher in Berührung zu bringen oder zu durchspülen.

m) Brenner. Ein gewöhnlicher Bunsenbrenner, ein Bunsenmikrobrenner mit einem Flämmchen von 1—2 cm Höhe und ein Sparbrenner mit doppelter Gaszuführung, der nach dem Auslöschen der großen Flamme ein kleines Flämmchen gibt, werden viel gebraucht.

n) Eine kleine Spritzflasche mit destilliertem Wasser, Drahtnetze mit und ohne Asbesteinlage, ein Platindraht, eingeschmolzen in einen Glasstab, ein Platinblech (4×4 cm), Objektträger mit aufgelegtem Glasring für Mikrosublimation (vgl. p. 26) und Pinsel gehören gleichfalls zu den Bedürfnissen des Mikrochemikers.

Einige andere Apparate und Utensilien, die besonderen Zwecken dienen, sollen später besprochen werden.

2. Reagentien.

Die Zahl der für die botanische Mikrochemie nötigen Reagentien ist, wenn man alle Bedürfnisse in Betracht zieht, eine recht große, in Wirklichkeit aber für mikrochemische Untersuchungen gewöhnlicher Art eine relativ beschränkte. Hierzu kommt, daß man von jedem Reagens nur sehr wenig braucht. Im folgenden soll zunächst eine Übersicht über die Reagentien und im Anschluß daran die Bereitungsweise einiger besonders wichtiger oder komplizierterer gegeben werden. Wer Interesse

für ausgedehntere Angaben hat, sei aufmerksam gemacht auf MERCKS (I) Reagentienverzeichnis.

α) Übersicht über die Reagentien.

Aceton
Alaun
Alkalischblau
Alkannatinktur
Alkohol (Äthyl-) absol. und gewöhnlicher
Alloxan
Aluminiumchlorid
Ameisensäure
Ammoniak
Ammoniumchlorid
Ammoniumhydrogensulfid
Ammoniumkarbonat
Ammoniummolybdat
Ammoniumoxalat
Ammoniumphosphat
Ammoniumsulfat
Ammoniumvanadat
Anethol
Anilin
Anilinblau
Anilinsulfat
Anilinviolett
Anisaldehyd
Anisol
Anthokyan
Antimonchlorür
Asparagin
Äther (Äthyl-)
Bariumchlorid
Bariumhydroxyd
Benzidin
Benzol
Benzopurpurin
Bismarckbraun (Vesuvin)
Bleiacetat
Borax
Brenzkatechin
Brillantblau
Brillantcroceïn
Bromwasser
Bromkalium
Brucin
Calciumacetat
Calciumhydroxyd
Calciumnitrat
Caesiumchlorid
Caesiumsulfat
Carbazol
Ceronitrat
Cersulfat
Chloralhydrat
Chlorkalk
Chlorcalcium
Chloroform
Chlorophyll
Chlorwasser
Chromsäure
Chromsäure + Schwefelsäure
Congorot
Coniferin
Corallin
Curcumapapier
Cyanin (Chinolinblau)
Deltapurpurin
p-Diazobenzolsulfosäure
p-Dimethylaminobenzaldehydlösung
Dimethylparaphenylendiamin
Diphenylamin
Diphenylanilodihydrotriazol (Nitron)
Eau de Javelle
Eisenchlorid
Eisenoxydsulfat
Eisenoxydulsulfat
Eisessig (Essigsäure)
Eosin
Eugenol
Fehlingsche Lösung
Fluorwasserstoff
Fuchsin
Gentianaviolett
Glyzerin
Goldchlorid
Guajaklösung
Guajakol
Gummilösung
Hämatoxylin
Javellesche Lauge
Indigblau
Indol
Jod
Jodalkohol (Jodtinktur)
Jodglyzerin
Jodjodkaliumlösung
Jodwasser
Jodchlorcalciumlösung
Jodchloralhydratlösung
Jodchlorzinklösung
Kaliumchlorat
Kaliumbichromat
Kaliumferricyanid
Kaliumferrocyanid
Kaliumhydroxyd
Kaliumjodid
Kaliumkarbonat
Kaliummyronat
Kaliumnitrit
Kaliumnitrat
Kaliumpermanganat
Kaliumquecksilberjodid
Kaliumwismutjodid
Kobaltchlorid
Kobaltnitrat
Kobaltnitrit
Kresol
Kupferacetat
Kupferoxydammoniak
Kupfersulfat
Lackmus
Lackmuspapier
Lackmusseide
Ligroin
Magnesiumsulfat
Malachitgrün
Metadiamidobenzol
Methylenblau
Methylgrün
Methylphenylhydrazin
Millons Reagens
Molischs Reagens (α-Naphtol + SO_4H_2)
Monokaliumsulfat
α-Naphtol
Naphtolschwarz
Naphtylamin (α und β)
Naphtylenblau
Natriumacetat
Natriumbikarbonat
Natriumchlorid
Natriumhydrosulfit
Natriumhydroxyd
Natriumhypochlorit
Natriumkarbonat
Natriumkobaltnitrit
Natriummolybdat
Natriumnitrit
Natriumphosphat
Natriumselenat
Natriumwolframat
Neßlers Reagens
Neutralrot
Nicholsonblau 6 B
Nickelacetat
Nigrosin
Ninhidrin
Nitron
Nitroprussidnatrium
Olivenöl
Orcin
Orseilline BB
Orthonitrophenylpropiolsäure
Osmiumsäure (Überosmiumsäure)
Oxalsäure
Palladiumoxydulnitrat
Pankreatinglycerin
Paratoluidin
Patentblau
Pepsin

Pepsinglycerin	Safranin	Tetramethylparaphenylendiamin (= Tetrapapier = Wursters-Papier)
Petroläther	Salicylaldehyd	
Phenol	Salicylsäure	
p-Phenylendiamin	Salpetersäure	Thallin
Phenylhydrazin	Salzsäure	Thallosulfat
Phlorogluzin	Säuregrün I. EEE.	Thalloacetat
Phosphormolybdänsäure	Scharlachrocein	Thymol
Piperonal	Schwefelammonium	Toluidendiamin
Pikrinsäure	Schwefelkohlenstoff	Uranylacetat
Pikrolonsäure	Schwefelsäure	Vanadinsaures Ammonium
Platinchlorid	Schwefelwasserstoffwasser	Vanillin
Pyrrogallol	Seide (gereinigte Rohseide)	Wasser, dest.
Pyrrol	Selensäure	Wasserstoffsuperoxydlösung
Quecksilberchlorid	Selensaures Natrium	
Quecksilbernitrat	Silbernitrat	Weinsäure
Quecksilberoxydulnitrat	Skatol	Wismutsulfat
Resorcin	Stärke	Wolfram-Schwefelsäure
Rhodankalium	Stärkekleister	Xylidin
Rhodankobalt	Strontiumnitrat	Xylol
Rohrzucker	Sudan III	Zimtaldehyd
Rosanilin	Tannin	Zinkchlorid
Rutheniumrot		

β) Bemerkungen zu einigen Reagentien.

Wasser. Ist immer im destillierten Zustande zu verwenden. Das Stiftfläschchen, welches das destillierte Wasser enthält, ist öfter zu reinigen und wieder mit destilliertem Wasser zu beschicken.

Jodlösungen.

Von diesen kommen in Betracht: Jodwasser, Jodalkohol, Jodglyzerin, Jodjodkalium, Chlorzinkjod, Jodchlorcalcium und Jodchloralhydrat. Sie dienen vorzugsweise dem Stärke-, Zellulose- und Eiweißnachweis.

1. Jodwasser. Destilliertes Wasser wird mit einigen Splittern metallischen Jod (100 ccm Wasser und 0,2 g Jod) zusammengebracht und mehrere Tage stehen gelassen. Die Lösung hat eine hellbraune Farbe. Ein Überschuß von Jod ist empfehlenswert, weil die Lösung dann immer gesättigt bleibt.

2. Jodalkohol. In Alkohol löst sich Jod viel leichter als in Wasser. Man löst 1 g Jod in 10 ccm Alkohol und erhält eine tiefbraune Lösung, die Jodtinktur. Bei zu starker Konzentration kann man mit Wasser oder Alkohol verdünnen, wobei aber Ausscheidung von Jod zu vermeiden ist.

3. Jodglyzerin. 0,2 g Jod und 10 ccm Glyzerin. Die braune Lösung kann je nach Bedarf mit Wasser oder Glyzerin verdünnt werden. Sie kann auch in der Weise bereitet werden, daß man Jodkalium in Glyzerin löst und dann Jod zusetzt.

4. Jodjodkalium. 1 g Jod wird zu 100 ccm einer wässerigen 5%igen Jodkaliumlösung zugesetzt. Die braune Lösung kann nach Bedarf auch verdünnt werden.

5. Chlorzinkjod. 30 g Chlorzink, 5 g Jodkalium, 1 g Jod und 14 ccm Wasser (Höhnel I). Oder: Zink wird bis zur Sättigung in Salzsäure gelöst, die Lösung bei Gegenwart von überschüssigem Zink bis zur Dickflüssigkeit eingedampft, mit Jodjodkalium gesättigt und schließlich so viel metallisches Jod zugesetzt als sich löst. Oder: 20 g

Zinkchlorid werden in 8,5 ccm Wasser gelöst und zur abgekühlten Lösung tropfenweise Jodjodkaliumlösung (Jodkali 3 g, Jod 1,5 g und Wasser 60 ccm) hinzugefügt, bis sich ein beim Schütteln nicht mehr verschwindender Jodniederschlag bildet (Nowopokrowsky I). 1,5 ccm dieser Jodkaliumlösung reicht gewöhnlich aus. Chlorzinkjod ist ein gutes Zellulosereagens. Hierfür hat Mangin (I) noch andere Lösungen: Aluminiumchlorür, Chlorcalciumjod, Jodzinnchlorid und Jodphosphorsäure empfohlen.

6. Chlorcalciumjodlösung. Man setzt zu 10 ccm einer konzentrierten Chlorcalciumlösung ca. 0,5 g Jodkalium und 0,1 g Jod und filtriert nach schwachem Erwärmen von dem überschüssigen Jod mit Glaswolle (Zimmermann I, 138).

7. Jodchloralhydrat. 5 g Chloralhydrat und 2 ccm Wasser und Jod zusetzen bis zur Sättigung (Meyer, A. I, 29). Ein ausgezeichnetes Mittel zum Stärkenachweis und zum Aufhellen. — Alle diese Lösungen werden zweckmäßig im Finstern aufbewahrt, weil sich im Lichte leicht Jodwasserstoffsäure bildet und durch sie manche Färbungen beeinträchtigt werden. Schimper (I) empfiehlt eine Konzentration von 5 Teilen Chloral und 5 Teilen Wasser.

Salizylsaures Natrium-Kresol ist ähnlich wie Chloralhydrat ein geeignetes Mittel zur Aufhellung von Drogen und Drogenpulvern. Gute Dienste leistet eine Mischung von 10 g salizylsaurem Natrium, 15 g dest. Wasser und 5 g Kresolum liquefactum[1]).

Kupferoxydammoniak, abgekürzt Cuoxam geschrieben, auch Schweizersches Reagens genannt, löst Zellulose. Darstellung: 1. Man fällt aus einer Kupfervitriollösung mit verdünnter Natronlauge Kupferoxydhydrat, wäscht durch Dekantieren gut mit Wasser, filtriert, preßt überschüssiges Wasser ab und löst in möglichst konzentrierter Ammoniakflüssigkeit. 2. Kupferdrehspäne werden mit 13—16% Ammoniakwasser übergossen und in einer offenen Flasche stehen gelassen (Wiesner III). Das Reagens wirkt, frisch bereitet, am besten und ist im Finstern aufzubewahren.

Nesslers Reagens. Es ist eine freie Kalilauge enthaltende wässerige Lösung von Kaliumquecksilberjodid, die nach Fresenius (I, 121) in folgender Weise hergestellt wird: 35 g Jodkalium und 13 g Quecksilberchlorid werden mit 800 ccm Wasser unter Umrühren zum Sieden erhitzt. Wenn eine klare Lösung entstanden ist, fügt man tropfenweise von einer kaltgesättigten Quecksilberchloridlösung zu, bis oben ein bleibender Niederschlag zu entstehen beginnt. Darauf fügt man noch 160 g Kalihydrat oder 120 g Natronhydrat zu, bringt durch Wasserzusatz auf 1 Liter, fügt noch ein wenig Quecksilberchloridlösung zu und läßt die Flüssigkeit sich absetzen. Die klare Flüssigkeit hat eine schwach gelbliche Färbung.

Molybdänsaures Ammon. Man stellt nach Fresenius (I, 85) dieses Reagens dar, indem man 150 g zerriebenes, reines molybdänsaures Ammon unter Erwärmung in 1 Liter Wasser löst und die Lösung in 1 Liter Salpetersäure von 1,2 spez. Gew. gießt. Um etwa vorhandene Phosphorsäure als phosphormolybdänsaures Ammon abzuscheiden, läßt

1) Kofler, L., Über Aufhellungsmittel von Drogen. Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie, Bd. XXXVII, Jahrg. 1920, p. 213.

man die Lösung an einem mäßig warmen Orte stehen und gießt dann die farblose Lösung von dem Niederschlage ab. Das Reagens ist nun zum Gebrauche fertig. Die Flüssigkeit muß auf 40° C erwärmt, klar bleiben, und beim Kochen darf sie keinen gelben Niederschlag geben. Der sich dann ausscheidende weiße Niederschlag besteht aus Molybdänsäure oder saurem molybdänsauren Ammon. Nach längerem Aufbewahren der Lösung zeigt sich zuweilen eine gelbe Fällung, die eine Modifikation der Molybdänsäure darstellt. Oder man bereitet das Reagens, indem man 1 g Ammoniummolybdat in 12 ccm Salpetersäure vom spez. Gew. 1,18 löst. Es dient zum Nachweis der Phosphorsäure.

Chromsäure, CrO_3, rote, nadelförmige, in Wasser leicht lösliche Kristalle. Wird in verschieden konzentrierten Lösungen verwendet.

Chromsäure — Schwefelsäure. Nach Wiesner (IV, 381) wird dieses Reagens in bequemer Weise erhalten, wenn man eine kaltgesättigte Lösung von doppeltchromsaurem Kali mit überschüssiger Schwefelsäure behandelt und nun so viel Wasser zusetzt, als erforderlich ist, um die sich ausscheidende Chromsäure in Lösung überzuführen. Das Reagens besteht demnach im wesentlichen aus einem Gemenge von Chromsäure und Schwefelsäure. Es wird zum Nachweis von Kohle herangezogen.

Zur Darstellung von Kieselskeletten bediente sich Crüger (I, 284) der Chrom-Schwefelsäure schon im Jahre 1857. Er bereitete sie durch Vermischen von 1 Teil Kaliumbichromat, 1 Teil Schwefelsäure (spez. Gew. 1,82) und 6 Teilen Wasser.

Osmiumsäure (Osmiumtetroxyd), OsO_4. Riecht sehr unangenehm; die Dämpfe greifen die Schleimhäute der Nase und Augen an. Wird in Konzentrationen von 0,1—1% als Fett- und Gerbstoffreagens und zur Fixierung von Zellbestandteilen vielfach gebraucht.

Eau de Javelle oder Javellesche Lauge ist eine Lösung von Kaliumhypochlorit (CLOK) und in der Apotheke in gebrauchsfähigem Zustande zu erhalten. Nach Strasburger (I, 687) kann man dieses Reagens bereiten, indem man 20 Teile des offizinellen (25%) Chlorkalkes mit 100 Teilen Wasser verrührt, einige Zeit stehen läßt, eine Auflösung von 15 Teilen reiner Pottasche in 100 Teilen Wasser hinzusetzt, nach einer oder mehreren Stunden die Mischung abfiltriert und das Filtrat verwendet. Die Lösung wirkt entfärbend, aufhellend und wird mit Vorteil beim Stärkenachweis benützt.

Schulzes Mischung ist ein Gemenge einer wässerigen, konzentrierten Lösung von chlorsaurem Kali und konzentrierter Salpetersäure (1:1). Dient in heißem Zustande zur Isolierung von Holz, Rinde und anderen Geweben und als Korkreagens usw. Man arbeitet zweckmäßig unterm Abzug wegen des sich entwickelnden Chlors und seiner Verbindungen.

Die Fehlingsche Lösung wird nach Classen (I) am besten in zwei getrennt aufzubewahrenden Lösungen bereitet: „a) Kupferlösung: 69,278 g reiner Kupfervitriol werden in Wasser gelöst und zu 1000 ccm aufgefüllt. b) Tartratlösung: 173 g Seignettesalz werden in 400 ccm Wasser gelöst und mit 100 ccm einer Natronlauge versetzt, die 516 g NaOH im Liter enthält. Man mischt etwa 5 ccm der Kupferlösung mit ebensoviel Tatratlösung und fügt zu der klaren blauen Lösung die Zuckerlösung".

Millons Reagens. Nach einer von Hartig (I) angegebenen Modifikation des von Millon 1849 angewandten Verfahrens erhält man das Reagens, wenn man reines Quecksilber in den gleichen Gewichtsteilen konzentrierter Salpetersäure löst und dann auf das Doppelte des Volumens mit Wasser verdünnt. Nickel (I, 7) löst 1 ccm Quecksilber in 9 ccm der konzentrierten Salpetersäure vom spezifischen Gewicht 1,52 und versetzt die erhaltene Lösung mit dem gleichen Volumen Wasser. Schon Millon hat erkannt, daß das Wirksame in seinem Reagens einerseits das Nitrat des Quecksilberoxyds und -oxyduls, andererseits die salpetrige Säure ist. Soll die Flüssigkeit gut wirken, so müssen die Nitrate beider Oxydationsstufen des Quecksilbers und überdies salpetrige Säure vorhanden sein. Wird das Reagens nach längerer Aufbewahrung weniger wirksam, so kann es durch Hinzufügung einiger Tropfen einer etwa 0,1 proz. Kaliumnitritlösung wieder restituiert werden (Krasser I, 140).

Hydroschwefligsaures Natrium-Indigweiß. Kny (I) bereitet das zum Nachweis von Sauerstoff dienende Reagens wie folgt: „Etwa 30 g Natriumbisulfit ($NaHSO_3$) wurden in etwa 100 ccm Leitungswasser gelöst. Nach Zusatz von Zinkstaub wurde die Flüssigkeit ca. fünf Minuten geschüttelt und mit dem fünf- bis zehnfachen Volumen Leitungswasser verdünnt. Diese Lösung wurde, nachdem sie filtriert war, mit ziemlich dicker Kalkmilch so lange versetzt, bis eine geringe Bläuung des roten Lackmuspapieres eintrat. Die nach dem Absetzen überstehende Flüssigkeit war das gewünschte Reagens.“ Von dieser farblosen Flüssigkeit fügt man so viel zu einer wässerigen Lösung von Indigocarmin (indigblaudisulfonsaures Natrium oder Indigotin), daß letztere eben noch entfärbt wird. Das Gemenge zeigt dann einen gelblichen Farbenton. Sollte das entfärbte Reagens sich im Sonnenlichte ein wenig bläuen, so muß es nach Kny vor dem Versuch gekocht und die Flasche rasch verschlossen werden, um die Spuren von vorhandenem Sauerstoff zu entfernen. Auch wenn man der Flüssigkeit, die vorher nicht gekocht worden war und sich bei Besonnung blau gefärbt hatte, nachher einige Tropfen Natriumhydrosulfit hinzufügt, bis sie wieder gelblich gefärbt erscheint, tritt bei Luftabschluß in der Sonne keine Bläuung mehr ein, und die Flüssigkeit ist jetzt tagelang für den Versuch geeignet. Sie wird durch Spuren von Sauerstoff rasch gebläut.

Alkanninlösung. Der aus der Wurzel von Alkanna tinctoria gewonnene rote Farbstoff dient zum Nachweis von Fetten, ätherischen Ölen und Harzen. Er färbt sie intensiv rot. Das käufliche Alkannin wird in absolutem Alkohol gelöst, mit dem gleichen Volumen Wasser versetzt und filtriert.

Hämatoxylinlösung nach Giltay (I) zum Färben von Zellulosemembranen. 5 ccm einer Lösung von 7 g Hämatoxylin in 50 ccm absolutem Alkohol werden zu einer $^3/_4$proz. Alaunlösung hinzugefügt. Die alsbald entstehende Ausfällung wird vor dem Gebrauch abfiltriert. Die Lösung soll eine Woche vor dem Gebrauch hergestellt werden. Man läßt die Präparate 5—15 Minuten in der Lösung.

Hämatoxylinlösung nach Böhmer. Von einer konzentrierten alkoholischen Hämatoxylinlösung, die 0,35 g Hämatoxylin auf 10 g Alkohol enthält und haltbar ist, werden einige Tropfen zu einer 0,3proz.

Alaunlösung gesetzt. Das Gemisch muß einige Tage stehen und vor dem Gebrauch filtriert werden.

Hämatoxylinlösung nach Delafield. (Siehe W. Behrens II, 112.)

1.	Hämatoxylin, kristallisiert	4 g
2.	Alkohol, absoluter	25 ccm
3.	Ammoniakalaun, kristallisiert	52 g
4.	Wasser	400 ccm
5.	Glyzerin	100 „
6.	Methylalkohol	100 „

Man löst 1 in 2 und 3 in 4 und vermengt beides. Kann nach Belieben verdünnt werden. Vor dem Gebrauch filtrieren.

Hämalaun nach P. Mayer. 1 g reines Hämateïn oder Hämateïn-Ammoniak wird in 50 ccm 90proz. Alkohol gelöst und dann eine Lösung von 50 g Alaun in 1 Liter Wasser zugesetzt.

Das Schiffsche Reagens zum Nachweis von Aldehyden wird gewonnen durch Einleiten von Schwefligsäureanhydrid in eine 0,025proz. Lösung eines Rosanilinsalzes, bis die Flüssigkeit schwach gelb gefärbt ist. Eine solche Lösung wird durch Aldehyde rot bis rotviolett gefärbt (Schiff I).

3. Die Herstellung eines mikroskopischen Präparates.

Die Art und Weise, wie mikrochemische Präparate hergestellt werden, kann verschieden sein. In der Regel handelt es sich aber doch zumeist um Schnitte, die in einen Tropfen einer bestimmten Flüssigkeit eingelegt und dann unter dem Mikroskop beobachtet werden. Man geht dabei in folgender Weise vor: Es wird zunächst ein wohl gereinigter Objektträger und ein reines Deckglas zurecht gelegt. Sodann fertigt man mit dem Rasiermesser aus freier Hand einen oder mehrere dünne Schnitte an, die rasch auf die Mitte des Objektträgers gebracht, mit einem Tropfen des Reagens aus dem Stiftfläschchen versetzt und dann mit dem Deckgläschen bedeckt werden, wobei darauf zu achten ist, daß keine Luftblasen entstehen, die Flüssigkeit den Raum zwischen Objektträger und Deckglas gerade ausfüllt und über seinen Rand nicht hinausreicht. Sind zur Ausführung der Reaktion zwei Reagentien notwendig, so tupft man sie auf den Objektträger knapp nebeneinander auf, gibt in einen den Schnitt und bringt dann mit einer Glasnadel die Tropfen zur Vereinigung. Oft ist es zweckmäßig, die Tropfen nicht erst zu vermischen, sondern man läßt das Deckglas auf die beiden nebeneinander befindlichen Tropfen möglichst langsam und vorsichtig auffallen, weil dann unterhalb des Deckgläschens ein Konzentrationsgefälle entsteht, was für das Zustandekommen und den Verlauf der Reaktion von Vorteil sein kann. Dann können, wenn es sich z. B. um Fällungsreaktionen handelt, Kristalle von verschiedener Form und Größe entstehen. Es gibt Fälle, wo die Reaktion augenblicklich oder erst nach einigen Minuten oder erst nach Stunden oder gar Tagen eintritt. In letzterem Falle muß man dafür sorgen, daß die Reagenzflüssigkeit nicht verdampft. Dies kann häufig leicht verhindert werden, indem man das Präparat in einen dunstgesättigten Raum bringt. Ein solcher kann hergestellt werden, indem man auf eine Kristallisierschale ein mit nassem Filtrierpapier

ausgekleidetes Becherglas umgekehrt aufstellt und mit destilliertem Wasser absperrt. Unter das Becherglas wird ein etagenartig gebautes Gestell aus Zinkblech oder Glas gebracht, das die Präparate aufzunehmen bestimmt ist.

Jeder Mikrochemiker tut gut daran, sich eine Sammlung von mikroskopischen Präparaten anzulegen, um sie zum Vergleich immer zur Hand zu haben. Bei Anfertigung eines solchen Präparates muß man immer überlegen: Welche Einbettungsflüssigkeit ist zu wählen, damit der nachzuweisende Körper oder sein Reaktionsprodukt und auch der Verschlußrahmen des Deckglases nicht gelöst oder sonstwie verändert wird? Demgemäß wird man Wasser, Glyzerin, Kaliumacetatlösung, Kanadabalsam, die Reaktionsflüssigkeit selbst usw. verwenden. Manche Präparate können auch in Luft liegend unter dem Deckglas aufbewahrt werden, wie z. B. viele durch Mikrosublimation gewonnene Kristalle.

Als Verschlußmittel dienen Wachs, Asphaltlack, Maskenlack und andere, über die in Büchern über mikroskopische Technik das Nähere zu finden ist. Hier möchte ich nur auf ein Verschlußmittel eingehen, das ich bereits seit 38 Jahren praktisch mit ausgezeichnetem Erfolg verwende und das außerhalb Österreichs noch zu wenig bekannt ist. Dickflüssiger, käuflicher venetianischer Terpentin wird in einer Porzellanschale auf einem Sandbad etwa 2 bis 3 Tage eingedickt, bis das kalt gewordene Harz bei gewöhnlicher Temperatur dem Finger keinen Eindruck mehr gestattet. Mit einem heißen Draht, der zu einem Dreieck geformt (Fig. 5) in einem Holzgriff steckt, wird das Harz in noch flüssigem Zustande sukzessiv um die vier Kanten des Deckglases aufgetragen, wonach es sofort erstarrt und einen ausgezeichneten luftdichten Verschluß bildet. Ich verschließe die meisten meiner mikroskopischen Präparate mit diesem Harz, und ich kann diese ausgezeichnete und ungemein vorteilhafte Verschlußmethode, die ich im Wiener pflanzenphysiologischen Institute als Assistent eingeführt habe und die jetzt von seiten der Botaniker in ganz Österreich seit den achtziger Jahren praktiziert wird, auf das Wärmste empfehlen.

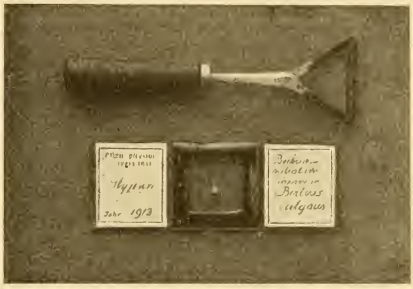


Fig. 5.
Oben: Dreieckig geformter Draht mit Griff. Dient zum Auftragen des Verschlußharzes.
Unten: Ein fertiges Dauerpräparat. Etwa $^1/_2$ der natürl. Größe.

Ist das Präparat verschlossen, so soll es, wenn möglich, sofort etikettiert werden. Die Etiketten sollen eine rechteckige Gestalt haben, können zum leichteren Auffinden in der Sammlung von verschiedener Farbe sein und werden am besten mit Synthetikon oder einer Lösung von braunem Schellack in Alkohol angeklebt. Ein so hergestelltes Präparat bietet dann dieses Aussehen dar (Fig. 5).

Aufbewahrung. Nach Fertigstellung müssen die Präparate sorgfältig aufbewahrt werden, um sie vor Licht und Staub zu schützen. Hierzu dienen die Präparatenkästen und Präparatenkartons, die in verschiedener Form und Größe leicht käuflich zu haben sind.

4. Beachtenswerte Winke.

Die Reinheit der Reagentien spielt bei mikrochemischen Arbeiten eine ganz besondere Rolle. Es handelt sich ja stets um den Nachweis sehr geringer Mengen eines Stoffes, und wenn dieser schon im Reagens als Verunreinigung vorhanden wäre, so beweist ein positiver Ausfall der Reaktion zunächst nichts. Man beziehe daher die käuflichen Reagentien in möglichst reiner Form, schütze sie vor Staub, Licht und den Verunreinigungen der Laboratoriumsluft. Auch bei den mit der Herstellung eines mikroskopischen Präparates verbundenen Manipulationen wird man jede Verunreinigung zu vermeiden und ganz besonders darauf zu achten haben, daß beim Auftropfen der Reagenzflüssigkeit nicht mit dem Stiftende fremde Substanzen in das Tropffläschchen eingeschmuggelt werden.

Einübung der Reaktion. Soll in einem Gewebe eine Reaktion mit einem bestimmten Stoff erzielt werden, so ist es zweckmäßig, die Reaktion, wenn möglich, zunächst mit reiner Substanz einzuüben, um sie in allen Details kennen zu lernen. Fällungen geben für ein und dieselbe Substanz oft sehr verschiedene Formen und Größen von Kristallen, und Farbenreaktionen geben verschiedene Farbentöne, die man kennen lernen soll, bevor man die Reaktionen mit dem Schnitte ausführt.

Langsame Diffusion. Liegt das Präparat unter dem Deckglas in einer Flüssigkeit und läßt man einen Reagenztropfen vom Rande des Deckglases zufließen, so dauert es oft außerordentlich lange Zeit, bis das Reagens in das Innere des Schnittes eindringt. Das wird sehr häufig übersehen und kann zu falschen Schlüssen führen. Man kann, um den Eintritt der Reaktion zu beschleunigen, das Deckglas emporheben und wieder auflegen. Die langsame Diffusion ist auch bei der Prüfung der Löslichkeit eines Körpers unter Deckglas sehr zu berücksichtigen. Löst sich eine Substanz unter Deckglas nicht, so prüfe man die Schnitte noch in einer Dose oder Eprouvette, wo sie in einer größeren Menge des zu untersuchenden Lösungsmittels längere Zeit verweilen sollen.

Rückstand des Reagenztropfens. Resultiert bei Ausführung einer Reaktion oder beim Verdampfen ein kristallinischer Rückstand, so ist es empfehlenswert, sich durch einen Kontrollversuch zu überzeugen, welche Kristalle das Reagenztröpfchen bei der Verdunstung für sich allein hinterläßt, damit diese nicht mit dem Reaktionsprodukt verwechselt werden.

5. Borodins Methode.

Ein Verfahren, das bei mikrochemischen Untersuchungen dann, wenn es sich um die Diagnose von kristallisierten Verbindungen handelt, gute Dienste leisten kann, verdanken wir Borodin (I, 805). Kristalle einer bestimmten Substanz lösen sich in einer vollkommen gesättigten Lösung derselben Substanz nicht. Auf dieser Tatsache beruht Borodins

Methode. Hat man z. B. in einem Gewebeschnitte Kristalle von Asparagin und Salpeter, die in der Form sich ähneln, und will man wissen, welche Asparagin und welche Salpeter sind, so legt man den Schnitt in eine gesättigte Asparaginlösung. Man wird dann beobachten, daß sich die Salpeterkristalle lösen, die des Asparagins aber nicht. Dieses Prinzip kann natürlich für die verschiedensten Substanzen verwertet werden, stets muß aber dafür gesorgt werden, daß die in Frage kommende Lösung wirklich gesättigt und nicht kälter als der zu prüfende Körper ist. Das Verfahren gewinnt an Sicherheit, wenn die Kristalle in der gesättigten Lösung sich nicht nur nicht lösen, sondern sogar weiterwachsen. Man darf aber nicht vergessen, daß auch isomorphe Substanzen das Wachstum veranlassen könnten.

6. Über den Nachweis der alkalischen und sauren Reaktion des Zellinhaltes und seiner Teile.

Für das Verständnis gewisser Erscheinungen in der lebenden Zelle erscheint es wichtig, zu wissen, wie das Plasma, der Zellkern, der Zellsaft und andere Bestandteile der Zelle oder gewisse Sekrete reagieren. Um die Reaktion festzustellen, gibt es verschiedene Wege:

a) Anthocyan. Bekanntlich hat das in so vielen Zellen im Zellsaft befindliche Anthocyan die Eigentümlichkeit, in sauerer Lösung rot, in neutraler violett und in schwach alkalischer blau bezw. grün zu erscheinen. Aus diesem Grunde wird dieser Farbstoff ebenso wie Lackmus als feiner Indikator für Alkaleszenz und Azidität verwendet. Das Anthocyan findet sich stets im Zellsaft, zumeist gelöst in roter Farbe, vor. Daraus kann man mit Sicherheit schließen, daß der Zellsaft, wenn er rot gefärbt ist, sauer reagiert. Erscheint der Zellsaft violett, so deutet dies auf eine neutrale, und erscheint er blau — ein im Pflanzenreich seltener Fall —, so zeigt dies eine schwach alkalische Reaktion an.

Das Plasma nimmt, solange die Zelle lebt, niemals Anthocyan auf, sobald sie aber getötet wird, sei es durch höhere Temperatur (60° C), durch ein Narkotikum (Chloroform) oder durch Druck, wird das Plasma für den Farbstoff permeabel, ja er wird darin sogar gespeichert und färbt sich dabei gewöhnlich blau. Dasselbe zeigt auch der Zellkern. Daraus folgt, daß in diesen Fällen das Plasma und der Zellkern alkalisch reagieren. — Will man den Nachweis dafür auch bei Zellen oder Geweben erbringen, die des Anthocyans entbehren, so kann man dies durch eine Anthocyanlösung bewerkstelligen. Eine solche bereitet man sich zweckmäßig aus Rotkraut, das vom Herbst bis zum Frühjahr auf dem Markte zu haben ist, oder nach Schwarz (I, 18) aus dem Braunkohl (Brassica oleracea var. crispa Garcke) durch Behandlung mit wenig heißem (60° C) Wasser. Da das Anthocyan in die lebende Zelle nicht einzudringen vermag, so muß man das Gewebe z. B. durch Alkohol zuerst töten und dann in die Farbstofflösung einlegen. Plasma und Kern speichern das Anthocyan sehr häufig in blauer Farbe. Auf diese Weise konnte Schwarz (I, 20) bei einer großen Anzahl von Gewächsen zeigen, daß Plasma und Kern alkalisch reagieren und daß im Zellkern nicht bloß das Chromatin und die Nukleolen, sondern auch die Gerüstsubstanz alkalische Reaktion aufweisen.

b) Anilinfarbstoffe. Auf Grund der Untersuchungen von Pfeffer (I, II) wissen wir, daß sich auch verschiedene Anilinfarbstoffe,

die die Zelle in verdünnter Form nicht schädigen und ihre Farbe je nach der alkalischen oder saueren Reaktion ändern, in die Vakuolenflüssigkeit einführen und dann durch ihre Farbe die Reaktion erkennen lassen. Solche Indikatoren sind Cyanin, Methylorange, Kongorot, Tropaeolin 000, Tropaeolin 00 und Rosolsäure, doch geben nur die drei zuerst genannten brauchbare Resultate.

Cyanin (Chinolinblau, Chinolinjodcyanin) erscheint in alkalischer Lösung blau, in sauerer farblos. Der Farbstoff ist in Wasser nur in geringem Maße löslich. Durch eine Cyaninlösung wird das normal fortströmende Plasma der Wurzelhaare von Trianea bogotensis rasch gebläut, weil es alkalisch reagiert (Pfeffer I, 259).

Methylorange wird beim Titrieren als Indikator verwendet. Seine Lösung ist in genügender Verdünnung gelborange. Alkalien ändern den Farbenton nicht, Säuren verwandeln ihn in Rot. In einer 0,01 proz. wässerigen Lösung färbt sich das strömende Plasma von Trianea nicht stark, aber doch deutlich gelborange. Fügt man dann zu dem Präparate eine 0,2 proz. Lösung von Zitronensäure, so nimmt das strömende Plasma einen rötlichen Ton an, der bei Zufuhr von verdünnter Ammonkarbonatlösung wieder nach Gelborange umschlägt. Der Zellsaft von Azolla färbt sich mit Methylorange rötlich; der von Spirogyra weist darin rötliche Körnchen auf, woraus auf eine sauere Reaktion des Zellsaftes zu schließen ist.

Kongorot, in neutraler und alkalischer Lösung rot, in sauerer blau, läßt sich leicht in die Vakuolen von Myxomycetenplasmodien einführen, färbt sie rot, höchstens mit einem Stich ins Bläuliche, und zeigt auf diese Weise die neutrale oder schwach sauere Reaktion der Vakuolenflüssigkeit an (Pfeffer II, 210.

c) Lackmusseide. Um Wasserstoff- und Hydroxylionen in außerordentlich kleinen Mengen nachzuweisen, bediente sich Emich (I—IV) der Lackmusseide. Sein Verfahren besteht darin, eine Fällung oder Färbung nicht unmittelbar unter dem Mikroskop zu betrachten, sondern erst nach vorhergehender Fixierung auf einer Faser. Er färbt Seidenfäden mit Lackmus und benutzt sie als Reagens. Zur Herstellung der Lackmusseide „kocht man käuflichen Lackmus mit etwas weniger als dem gleichen Gewichte Wasser und entfernt den bekanntlich sehr unreinen ersten Auszug. Der Rückstand wird nochmals mit wenig heißem Wasser behandelt, die Lösung filtriert, siedend mit Schwefelsäure übersättigt und zum Färben von Seide verwendet, welche man etwa eine halbe Stunde lang im heißen Bade verweilen läßt, um sie schließlich in fließendes Wasser zu bringen, wo die rein rote Farbe bald einen Stich ins Violette erhält. Nach dem Trocknen wird das Präparat, ‚die rote Lackmusseide', im Dunkeln aufbewahrt. Behufs Herstellung der ‚blauen Lackmusseide' übergießt man die rote mit wenig Wasser, setzt vorsichtig stark verdünnte Lauge zu, spült rasch einmal mit destilliertem Wasser ab, preßt zwischen Papier und trocknet. (In einem speziellen Falle wurden für 0,15 g rote Seide 0,6 ccm Lauge, 1 ccm = 2,6 mg HaOH, gebraucht.)" Später empfahl Emich (II), die rote Lackmusseide nicht mit Lauge, sondern mit Bleiessig zu neutralisieren, da die blaue Seide, wenn sie mit größeren Tröpfchen zusammengebracht wird, Alkali verliert und rot wird, was zu Täuschungen Veranlassung geben kann. Emich verfährt bei der Prüfung auf eine

Reaktion in der Weise, daß er den Seidenfaden auf einem kleinen Wachsklötzchen befestigt und mit einer scharfen Schere beschneidet, so daß etwa ein 1 cm langer Teil frei bleibt. Ein Tropfen der zu prüfenden Flüssigkeit, etwa 0,05 mg, wird auf eine Glasplatte gebracht und das freie Ende des Seidenfadens lotrecht eingetaucht, wobei er während der Verdampfung der sich immer mehr und mehr konzentrierenden Lösung ausgesetzt bleibt. Nach dem Verdunsten der Flüssigkeit wird der Faden mikroskopisch (Vergr. 150) auf seine Farbe geprüft und aus der Farbe die Alkaleszenz oder Azidität des Tröpfchens festgestellt.

Die Empfindlichkeit dieser Methode ist eine erstaunliche. Ihre Grenze liegt nach Emich (IV, 48) für rote Lackmusseide bei 0,0003 μg Natriumhydroxyd, für blaue Lackmusseide bei 0,0005 μg Salzsäure und für Bleioxydlackmusseide bei 0,001 μg Salzsäure. Um sich von dem Alkaligehalt des Glases unabhängig zu machen, empfiehlt es sich, den Objektträger mit neutralem Paraffin zu überziehen oder Quarzobjektträger zu benützen.

Die Lackmusseide wird auch dem Botaniker Dienste leisten, wenn es sich darum handelt, Spuren von Alkalien oder Säuren festzustellen, z. B. bei Prüfung von Plasmodien, Guttations-, Nektar-, Safttropfen usw. Im allgemeinen wird man für botanische Zwecke, da es sich ja stets um relativ große Tröpfchen handelt, mit schmalen, keilförmig zugeschnittenen Lackmuspapierstreifen das Auslangen finden. Es ist bekannt, daß manche Blüten, so die des Birnbaums (Pirus domestica) und des Weißdorns (Crataegus oxyacantha) stark nach Trimethylamin riechen. Bringt man solche in Wasser stehende Blütenzweige unter eine Glasglocke, so treten aus dem Blütenboden Safttropfen hervor, die wahrscheinlich Trimethylamin enthalten und mit Lackmusseide oder Lackmuspapier eine sehr deutliche alkalische Reaktion geben.

Alkalisch reagieren auch die Siebröhrensäfte der Cucurbitaceen (Kraus I), vielleicht auch anderer Pflanzen. Bei Cucurbita wird die Reaktion wahrscheinlich durch Kaliumphosphat bedingt.

Anschließend daran sei noch eine Methode besprochen, die zwar nicht der Feststellung der Reaktion dient, wohl aber zum Nachweis von Alkali geeignet erscheint.

d) Das Jodeosin als Salz — die Kaliumverbindung des Tetrajodfluoresceïns — löst sich in Wasser leicht zu einer intensiv roten Flüssigkeit, in Äther, Chloroform, Toluol nicht. Die freie Farbsäure des Jodeosins, gewonnen aus dem Salz durch Ansäuern der Lösung, löst sich hingegen in organischen Lösungsmitteln. Schüttelt man die freigewordene Farbsäure mit Äther, so löst sie sich darin mit gelber Farbe: „Nimmt man nun ein trockenes Gewebe und behandelt es mit der ätherischen Lösung der freien Farbsäure, so färben sich diejenigen Stellen des Gewebes, an welchen Alkali vorhanden ist, sofort intensiv rot — es entsteht eben hier durch chemische Verbindung von freier Farbsäure und Alkali des Gewebes das charakteristische intensiv rot gefärbte Alkalisalz, welches, da kein Wasser zugegen, an Ort und Stelle verbleibt und uns, worin der wissenschaftliche Wert der Methode besteht, ein exaktes Bild der topischen Verteilung von Alkali innerhalb des Gewebes liefert.“ Die Methode, welche Hof (I) im Anschluß an Erfahrungen von Mylius und Ehrlich zum Studium der Alkaliverteilung in pflanzlichen Geweben empfohlen hat, eignet sich nur für trockene

Gewebe (Drogen, Hölzer, Samen usw.), da in saftigen das Alkali leicht ausgewaschen wird und auch andere, chemisch nicht genügend bekannte Färbungen auftreten können.

Nach der Jodeosinmethode erwiesen sich bei Versuchen von Hof alkalifrei: Holundermark, Schnitte durch die Rinde von Quercus, Betula, Zimt usw., geringer Alkaligehalt fand sich bei Querschnitten durch die Muskatnuß, Pfeffer und ein sehr deutlicher bei der Mehrzahl der untersuchten Objekte: Schnitte durch Folia Lauri, Radix Althaeae, Rhizoma Calami, Zweige von Alnus glutinosa usw. In diesen Zweigen war das Cambium, die sekundäre Rinde, die Markkrone und das Holzparenchym tingiert, alle anderen Elemente reagierten negativ. Das Cambium zeigt überhaupt großen Alkaligehalt an. Auch Tropfen von verschiedenen Milchsäften (Taraxacum offic., Chelidonium majus und Euphorbia Cyparissias) verraten, völlig eingetrocknet und mit dem Reagens behandelt, starken Alkaligehalt.

7. Die Mikrosublimation.

Der botanischen Mikrochemie erwuchs durch die Anwendung der Mikrosublimation ein wichtiges Hilfsmittel. Bereits vor nahezu 50 Jahren hat Helwig (I, II) die Mikrosublimation in die chemische Analyse eingeführt, indem er namentlich Giftstoffe (arsenige Säure, Alkaloide) durch Sublimation nachzuweisen suchte. Er ging dabei so vor, daß er eine sehr kleine Menge des zu untersuchenden Alkaloids in die hohlkugelige Vertiefung eines Platinblechs brachte, mit einem Objektträger bedeckte und dann das Blech mit einer kleinen Flamme bis zum Schmelzen des Alkaloids erwärmte. Das Sublimat schlug sich dann auf dem Objektträger nieder und konnte dann weiter geprüft werden. Seine Versuche bezogen sich unter anderen auf Morphin, Strychnin, Brucin, Veratrin, Aconitin, Atropin, Solanin und Digitalin und ergaben in allen acht Fällen Sublimate. Guy (I) folgte Helwigs Beispiel, sublimierte aber nicht wie dieser auf einer Glasplatte und dem Platinblech, sondern auf einer Porzellanplatte und zur Vermeidung höherer Temperatur auf dem Wasserbad. — Wiesner (V, 175) bemerkte, als er Tolubalsam auf dem Objektträger, bedeckt mit einem Deckglas, schmolz, daß am Rande der Schmelze sich ein aus feinen Nadeln bestehendes Sublimat bildete. Und aus dem Storax konnte er unterm Deckglas Zimtsäure sublimieren (V, 178).

Obwohl auch Behrens (II) die Mikrosublimation benützte, schenkten die Botaniker diesem Verfahren keine Beachtung, und erst Nestler (I—IV) blieb es vorbehalten, auf die Wichtigkeit und Brauchbarkeit dieser so einfachen Methode hinzuweisen und sie für Kaffeïn, Vanillin, Cumarin und Benzoësäure erfolgreich anzuwenden. Auf diesem Wege folgte ihm in mehreren Untersuchungen Tunmann (I—IV), dem es hauptsächlich darum zu tun war, die Mikrosublimationsmethode in den Dienst der Pharmakognosie zu stellen und zu zeigen, daß diese Methode zur Erkennung gewisser Drogen ganz ausgezeichnete Dienste zu leisten vermag. Er konnte aus Gentiana das Gentisin, aus Asa Foetida die Ferulasäure, aus Birkenrinde das Betulin, aus der Colombowurzel die Colomboalkaloide, aus der Manna den Mannit, aus Früchten von Sorbus aucuparia die Maleïnsäure und Sorbinsäure, aus Citrusfrüchten die Citraconsäure und aus verschiedenen Samen Fettsäuren

sublimieren und so die genannten Pflanzenobjekte viel besser diagnostizieren, als dies auf Grund einer anatomischen Untersuchung allein möglich ist. Analoges zeigte Mitlacher (I) für die Sublimation der Antrachinonderivate bei Rheum, Senna, Rhamnus Frangula und R. Purshiana und Senft (I) für den Nachweis des Physcions einiger Flechten.

Die Durchführung der Mikrosublimation kann in verschiedener Weise bewerkstelligt werden.

a) Mit Uhrglas. Nestler benutzt Uhrgläser von 8 bis 9 cm Durchmesser und ungefähr 1,5 mm Dicke. „In einem solchen Uhrglas wird die zerkleinerte Probe des zu untersuchenden Objektes in Form eines kleinen Häufchens angeordnet und mit einer runden Glasplatte bedeckt. . . . Um das Sublimieren zu befördern, kann man auf der Außenseite der Glasplatte über dem zu prüfenden Objekte einen Wassertropfen anbringen. Das Ganze kommt auf ein von einem Dreifuß getragenes Drahtnetz über die kleine Flamme eines Bunsenbrenners (Mikrobrenners). Die Spitze dieser kleinen Flamme war bei allen diesen Versuchen durchschnittlich 7 cm von dem Uhrglas entfernt.“ Nach einiger Zeit erscheint das Sublimat, welches nun in seiner ganzen Ausdehnung mikroskopisch untersucht werden soll. Anstatt des Uhrglases läßt sich auch eine Petrischale verwerten.

b) Asbestplatte und Objektträger. Tunmann (I) bringt die zu prüfende Substanz (Pulver, Schnitte oder Flüssigkeit) auf das eine Ende eines Objektträgers und diesen auf eine Asbestplatte. Darüber legt man zur Aufnahme des Sublimats einen zweiten Objektträger, der an einem Ende durch ein 3 bis 5 mm hohes, auf der Asbestplatte liegendes Korkstückchen gestützt wird. An Stelle des oberen Objektträgers kann man auch eine breitere Glasplatte verwenden, um ein seitliches Abstreichen des flüchtigen sublimierenden Körpers zu verhindern.

c) Glasring. Ich erhielt bei vielen Substanzen sehr schöne Sublimate, indem ich auf die Asbestplatte einen Objektträger brachte, auf diesen einen kleinen Glasring (1,5 cm breit, 0,7 cm hoch) legte, die zu prüfende Substanz hineingab und dann den Ring zur Aufnahme des Sublimats mit einem Objektträger bedeckte.

Zur Erhitzung bediene man sich eines Mikrobrenners mit kleiner 1 bis 1,5 cm langer Flamme, die zur Regulierung der Temperatur der Asbestplatte oder dem Drahtnetz mehr oder minder näher gerückt werden kann. Die anzuwendende Temperatur erscheint von wesentlicher Bedeutung, deshalb lasse man sich durch ein negatives Resultat nicht gleich abschrecken, sondern sublimiere bei verschiedenen Temperaturen, zuerst bei mäßiger, dann bei stärkerer, auch deshalb, weil das Aussehen der Sublimate je nach der Temperatur wechseln kann. Auch ist es nach meinen Erfahrungen zweckmäßig, sich nicht auf eine Methode zu verlassen, sondern alle drei eben erwähnten (a, b, c) zu versuchen. Man trachte von einer Substanz stets mehrere Sublimate zu erhalten, um über die oft recht verschieden ausfallenden Gestalten und Größen der Kristalle einen Überblick zu gewinnen. Das Sublimat wird oft instruktiver und reiner, wenn es ein zweites oder drittes Mal sublimiert wird, oder wenn man die Anflüge anhaucht oder mit Lösungsmitteln

behandelt und diese verdampfen läßt. Das erhaltene Sublimat wird dann weiter geprüft. Mit ein und demselben Anflug lassen sich zahlreiche Prüfungen vornehmen, wenn man mit Glaskapillaren die Reagenztröpfchen aufträgt. Man kann dann mit fabelhaft kleinen Mengen Substanz zu einer sicheren Diagnose gelangen.

e) Sublimation in luftverdünntem Raume. Da die Sublimation eines Körpers durch die Verminderung des Luftdrucks gefördert wird, so ist es von vornherein zu erwarten, daß man bei der Sublimation im Vakuum besonders gute Resultate erzielen dürfte. Rosenthaler (I) hat dies mit feinen Drogenpulvern zuerst versucht; die von ihm benützte Apparatur ließ aber eine bequeme Beobachtung und Prüfung des auf der Wand des Reagenzglases erscheinenden Sublimates nicht zu. Eine gründliche Abhandlung über die Mikrosublimation von Alkaloiden in luftverdünntem Raume verdanken wir Eder (I). Er bediente sich zur Mikrosublimation eines einfachen Apparates aus Jenaer Glas, der in Fig. 6 abgebildet erscheint.

„Der Apparat besteht aus zwei Teilen, die beide aus Rohrstücken von 2,5 cm Weite hergestellt sind. Der kürzere, untere Teil von 4,5 cm Länge verengt sich unten und wird durch ein Näpfchen von 1 cm Tiefe und 0,5 cm Weite abgeschlossen. In dieses kommt die zu sublimierende Substanz. Über das Näpfchen wird ein rundes Deckgläschen von 18 mm Durchmesser gelegt, welches zum Auffangen des Sublimates dient. Das wagerechtliegende Plättchen hat vom Grunde des Näpfchens einen Abstand von 13 mm. Es werden also an die Steighöhe der Dämpfe keine hohen Anforderungen gestellt. Am offenen Ende ist das untere Apparatstück mit einem verdickten, flachen Rand versehen. Derselbe ist sehr fein geschliffen und paßt dicht auf die Endigung des oberen Apparatstückes, welche ganz gleich gebaut ist. Das obere Apparatstück hat eine Länge von 12 cm und ist am oberen Ende mit einem engeren Tubus versehen. Dieser wird durch einen kurzen Kautschukstopfen verschlossen. Der Stopfen trägt ein Thermometer, das bis etwa zum Skalenteil 150° in den Apparat hineinragt, und dessen Quecksilberbehälter möglichst nahe dem runden Deckgläschen im unteren Teil des Apparates endet. Das obere Apparatstück, welches in senkrechter Lage in einem Stativ befestigt wird, besitzt noch ein seitliches Ansatzrohr, welches durch einen Vakuumschlauch mit einem Manometer verbunden ist; von diesem geht die Schlauchverbindung weiter zur Wasserstrahlpumpe. Um zu vermeiden, daß infolge wechselnden Wasserdruckes Wasser aus der Saugpumpe in das Manometer oder in den Apparat eindringt, schaltet man zweckmäßig zwischen Pumpe und Manometer einen Glashahn und eine dickwandige Saugflasche ein. Der Hahn wird vor dem Abstellen der Pumpe geschlossen. Wenn der Schliff des Apparates, der sehr sorgfältig ausgeführt sein muß, mit einer Spur Vaselin eingefettet wird, so erreicht man mittels einer gut ziehenden Wasserstrahlpumpe leicht eine Luftverdünnung von 9 bis 12 mm Druck. Der Schliff kann eventuell auch vermieden werden, so daß der Apparat dann die einfache, in Fig. 6 rechts abgebildete Form erhält. Auch das innere Thermometer ist entbehrlich, sofern man auf die Bestimmung der Plättchentemperatur verzichten will. Trägt man dafür Sorge, daß die Substanz im Näpfchen nicht über den Schmelzpunkt erhitzt wird, so braucht man nicht zu befürchten, daß die Kristalle

des Sublimates schmelzen, denn die Temperatur des Plättchens bleibt immer unter derjenigen des im Näpfchen zur Verdampfung gebrachten Körpers.

Das Erhitzen des zu sublimierenden Körpers geschieht auf die Weise, daß der unterste Teil des Apparates, das Näpfchen, welches die Substanz enthält, in konzentrierte Schwefelsäure eingesenkt wird, die sich in einem Becher befindet und mittels einer kleinen Bunsenflamme langsam erwärmt wird. Unmittelbar neben dem Näpfchen taucht ein Thermometer in das Schwefelsäurebad, derart, daß sich der Quecksilberbehälter gerade unter dem Niveau der Säure neben dem Näpfchen befindet."

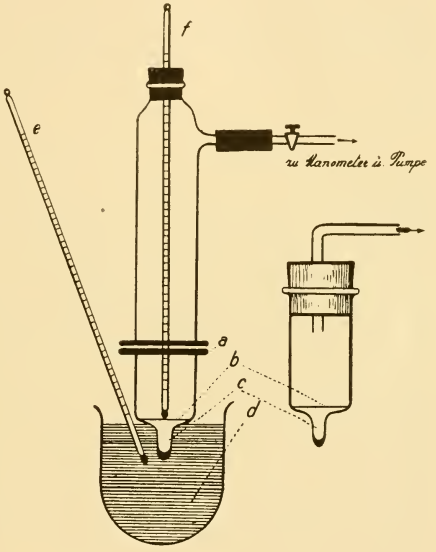


Fig. 6.

Apparat zur Mikrosublimation im luftverdünnten Raume, $^1/_2$ natürl. Größe. *a* Schliff, *b* Plättchen, *c* Näpfchen mit Substanz, *d* konzentrierte H_2SO_4, *e* und *f* Thermometer. (Nach Eder.)

Eder hat ausschließlich mit reinen Alkaloiden gearbeitet und damit bei vielen vorzügliche Resultate erhalten; es wird aber weiterer Versuche bedürfen, um festzustellen, ob sich die Mikrosublimation im luftverdünnten Raume auch für Gewebe eignen wird. Nach meinen Erfahrungen wird man mit der Sublimation unter gewöhnlichem Luftdruck in den meisten Fällen das Auslangen finden, womit aber nicht gesagt sein soll, daß man im luftverdünnten Raume in einzelnen Fällen nicht bessere Resultate erzielen dürfte.

Jedenfalls ist die Mikrosublimation berufen, in der Mikrochemie eine bedeutende Rolle zu spielen und den Nachweis von bestimmten Stoffen in kleinen Fragmenten der Pflanze zu ermöglichen oder zu erleichtern. Der Nutzen der Mikrosublimation wird noch gesteigert werden, wenn sie mit der von Pregl (I) ausgearbeiteten quantitativen Mikroelementaranalyse kombiniert werden wird. Pregl benötigt 8—12 mg einer organischen Substanz, um darin Kohlenstoff, Wasserstoff, Stickstoff, Schwefel oder Halogene genau zu bestimmen, und solche Mengen können durch die Mikrosublimation leicht beschafft werden.

8. Fluoreszenz.

Im allgemeinen wird man bei botanisch mikrochemischen Untersuchungen nur selten in die Lage kommen, auch die Eigenschaft der

Fluoreszenz zur Diagnose heranzuziehen. In einzelnen Fällen kann aber diese Erscheinung gute Dienste leisten, so beim Nachweis des Chlorophylls, Phykocyans, Phykoerythrins, Äskulins und einiger anderer Körper. Man kann dabei in folgender Weise vorgehen:

a) Auf eine schwarze Glasplatte wird ein stecknadelkopfgroßes Sandkorn und ein Tropfen der zu untersuchenden Lösung gebracht und beides mit einem Deckglas bedeckt. Auf diese Weise bildet sich ein Flüssigkeitskeil von verschiedener Dicke. Arbeitet man mit einer Chlorophyllösung, so erscheint sie in direktem Sonnenlichte in den dickeren Schichten für das freie Auge blutrot, desgleichen auch unter dem Mikroskop. Mit Hilfe dieses Verfahrens läßt sich die Fluoreszenz des Äskulins mit einem einzigen mikroskopischen Schnitt durch die Rinde von Aesculus Hippocastanum demonstrieren. Besonders scharf gestaltet sich der Nachweis, wenn man auf die Flüssigkeit in direktem Sonnenlicht einen Lichtkegel wirft.

b) Ich bediente mich auch mit Vorteil schwarzer Glaskapillaren, 5—10 mm lang, 4 mm breit und von 0,5 mm innerem Durchmesser, die bei der Firma C. Zeiß zu haben sind. Solche Kappillaren aus farblosem Glase wurden bereits von Emich (V) mit Erfolg verwendet, um die Farbe schwach gefärbter Flüssigkeiten bei axialer Durchleuchtung feststellen zu können. Man füllt eine schwarze Kapillare mit der zu prüfenden Flüssigkeit, stellt die Kapillare vertikal auf einen Objektträger und bedeckt die obere Öffnung rasch mit einem Deckglas, wobei man die Bildung von Luftblasen zu vermeiden hat. Sodann stellt man die auf dem Objektträger stehende Kapillare unter die Mikroskoplinse bei sehr schwacher Vergrößerung (30—50) ein, läßt direktes Sonnenlicht auffallen und beobachtet. Eine Chlorophyllösung erscheint dann im durchfallenden Lichte grün, im auffallenden bei Ausschaltung des Mikroskopspiegels tiefrot. Auch am Rande der Kapillare, wo eine dickere Schicht der Chlorophyllösung häufig haftet, kann die rote Fluoreszenz sehr schön beobachtet werden. Die in den Kapillaren vorhandene Blattgrünmenge ist sicherlich eine außerordentlich geringe und gibt sich trotzdem auf diese Weise durch ihre Fluoreszenz zu erkennen. Die erste Methode (a) ist die bequemere; sie wird, wenn es sich nicht um sehr geringe Flüssigkeitsmengen handelt, ausreichen, was um so angenehmer erscheint, als die schwarzen Kapillaren ziemlich teuer sind. Schwarze, an beiden Polen abgeschliffene Glasperlen können anstatt der Kapillaren verwendet werden; sie sind viel billiger.

9. Das polarisierte Licht.

Die Beobachtung der Zellbestandteile im polarisierten Lichte ist für den Mikrochemiker von Bedeutung, wenn auch nicht von jener wie für den Petrographen. Obwohl es sich dabei um eine mikrophysikalische Methode handelt, muß sie doch auch hier berührt werden, da chemische und physikalische Charakteristik sich heute kaum mehr voneinander trennen lassen. Ich setze hier die Kenntnis und die Theorie der Polarisationserscheinungen als bekannt voraus; wer sich dafür mehr interessiert, wird ohnedies Spezialwerke zu Hilfe nehmen müssen, von denen ich besonders die von Weinschenk (I) und Ambronn (I) empfehlen möchte, das letztere besonders deshalb, weil es vorzugsweise botanische Objekte berücksichtigt.

Hier seien nur einige wichtige Punkte hervorgehoben. Das Polarisationsmikroskop unterscheidet sich wesentlich nur dadurch von einem gewöhnlichen, daß es noch zwei Nicolsche Prismen führt. Eines, der Polarisator, befindet sich häufig an Stelle der Blende und ist in den Mantel der Zylinderblende hineingeschoben. Der Polarisator hat die Aufgabe, das vom Spiegel reflektierte (zumeist) gewöhnliche Licht in geradlinig polarisiertes zu verwandeln. Die Ätherteilchen eines gewöhnlichen Lichtstrahles schwingen bekanntlich senkrecht zur Fortpflanzungsrichtung nach allen Richtungen, die des polarisierten Strahles aber nur in einer solchen Ebene. Das zweite Nicolprisma, der Analysator, wird entweder dem Okular drehbar über einen Teilkreis aufgesetzt oder zwischen die beiden Linsen eingesetzt. Wir wollen das Polarisationsmikroskop verwenden, um

1. den Pleochroismus,
2. die Doppelbrechung,
3. die Auslöschungsrichtungen

festzustellen.

1. Unter Pleochroismus versteht man die Verschiedenheit der Färbung in verschiedenen Richtungen eines Kristalls. Zum Nachweis dieser Erscheinung bedient man sich nur eines Nicols, und zwar am besten des Polarisators. Werden pleochroitische Kristalle — ein ausgezeichnetes Objekt hierfür stellen die Carotinkristalle der Wurzel von Daucus Carota dar — im Mikroskop betrachtet, während der Polarisator oder der Objektträger gedreht wird, so erscheinen die Carotinkristalle abwechselnd heller oder dunkler, die rhombischen Tafeln bei bestimmter Lage sogar farblos.

2. Die Erkennung der Doppelbrechung. Betrachtet man einen einfach brechenden, d. h. optisch isotropen Kristall oder einen Durchschnitt davon bei gekreuzten Nicols, so erleidet das aus dem Polarisator herauskommende geradlinig polarisierte Licht im Kristall keine Veränderung, trifft auf den Analysator, dessen Schwingungsrichtung 90° mit derjenigen der ankommenden Strahlen bildet und wird hier nicht durchgelassen. Der Kristall erscheint daher dunkel, und zwar bleibt er in allen Stellungen bei gekreuzten Nicols dunkel, bei nicht gekreuzten hell.

Doppelbrechende Kristalle, d. h. optisch anisotrope, verhalten sich wesentlich anders, denn sie erscheinen bei gekreuzten Nicols im dunkeln Gesichtsfeld hell. Bei gekreuzten Nicols wird nur dann das aus dem Polarisator austretende Licht den Kristall unverändert passieren, wenn die Schwingungsrichtungen im Kristall genau parallel zu denen in den beiden Nicols liegen. Stehen die genannten Schwingungsrichtungen mehr oder minder schief zueinander, dann leuchten die doppelbrechenden Kristalle auf dunklem Grunde auf, und zwar werden sie bei einer Horizontaldrehung des Objekttisches um 360° zwischen gekreuzten Nicols viermal abwechselnd hell und dunkel erscheinen. Wenn die Schwingungsrichtungen im Kristall mit denen des Nicols einen Winkel von 45° bilden, erreicht die Helligkeit den höchsten Grad, bei weiterem Drehen nimmt sie ab und geht allmählich in vollkommene Dunkelheit über, womit die Parallelstellung der beiderseitigen Schwingungsrichtungen erreicht ist. Man nennt diese Stellung die Auslöschungsstellung und die Schwingungsrichtung in dem Kristall die Auslöschungsrichtung. Ihre

Feststellung ist für die Ermittelung des Kristallsystems, wie noch mitgeteilt werden wird, oft von sehr großer Bedeutung.

Viele in der Zelle vorhandene Kristalle, Stärkekörner und die meisten Zellwände leuchten bei gekreuzten Nicols auf und geben sich auf diese Weise als doppelbrechende Körper zu erkennen. Nicht selten sind die Kristalle, z. B. die des Kalkoxalats, im Blatte des Tabaks oder der Gräser so klein und undeutlich, daß es von Vorteil erscheint, sie im polarisierten Lichte zu prüfen. Sie leuchten im dunkeln Gesichtsfelde oft in schönen irisierenden Farben auf und verraten so ihre Anwesenheit. Stärkekörner erscheinen nicht bloß hell bei gekreuzten Nicols, sondern sie zeigen auch ein dunkles Kreuz wie ein optisch einachsiger Kristall. Die beiden Arme des Kreuzes fallen mit den Schwingungsebenen der beiden Nicols zusammen und schneiden sich im Kerne des Stärkekorns (Fig. 7). Ist das Korn exzentrisch gebaut, so hat das Kreuz gleichfalls eine exzentrische Lage (Kartoffelstärke), ist das Korn konzentrisch, der Kern zentrisch (Weizenstärke), dann treffen sich auch die Arme des Kreuzes im Mittelpunkt des Korns. Das Verhalten der Stärkekörner im polarisierten Licht spricht sehr für die Auffassung A. Meyers, daß sie als Sphärokristalle aufzufassen sind, denn echte Sphärite, wie die des Inulins, des Calciumphosphats und andere, verhalten sich genau so.

Fig. 7.
Stärkekörner aus der Kartoffelknolle im polarisierten Lichte bei gekreuzten Nicols. Jedes Korn zeigt ein dunkles Kreuz. Rechts ein zweifach zusammengesetztes Korn.

3. Die Auslöschungsrichtungen. Wird ein doppelbrechender Kristall zwischen gekreuzten Nicols betrachtet, während der Objekttisch um 360° gedreht wird, so erscheint der Kristall meist in vier Lagen dunkel, von denen je zwei senkrecht aufeinander stehen. Diese Richtungen heißen die Auslöschungsrichtungen.

Läuft diese Auslöschungsrichtung einer Kristallkante parallel bzw. auf diese senkrecht, so spricht man von gerader Auslöschung in bezug auf diese Kante, von schiefen aber, wenn die Auslöschungsrichtungen mit einer Kante einen von 0° und 90° verschiedenen Winkel einschließen (Fig. 8). Für derartige Bestimmungen wählt man gewöhnlich eine der Hauptkanten, nach welcher der Kristall vorwiegend entwickelt ist. Der Winkel, den die Auslöschungsrichtung mit der erwähnten Kristallkante bildet, heißt die Auslöschungsschiefe.

Will man sich über das **Kristallsystem** orientieren, so hat man nicht bloß auf die Gestalt und die Doppelbrechung, sondern auch auf die Auslöschungsrichtung zu achten, wie aus folgenden Punkten, die ich der „Anleitung zum Bestimmen der Mineralien“ von Fuchs-Brauns (I) entnehme, hervorgeht:

„1. Alle Kristalle bleiben bei gekreuzten Nicols in jeder Lage dunkel; sie sind einfach brechend, **regulär** (Cäsiumalaun).

2. Die meisten Kristalle werden zwischen gekreuzten Nicols hell (oft nur grau) und farbig und besitzen gerade Auslöschung, einzelne bleiben in allen Lagen dunkel; sie sind doppelbrechend und optisch einachsig. Man hat weiter den Umriß der dunkel bleibenden Kristalle zu beachten:

   a) der Umriß der dunkel bleibenden Kristalle ist vierseitig (oder achtseitig), quadratisch, die Kristalle sind **quadratisch** [tetragonal] (Calciumoxalat);

   b) der Umriß ist sechsseitig, die Kristalle sind **hexagonal** (Kieselfluornatrium);

   c) der Umriß der dunkel bleibenden Kristalle ist dreiseitig, die Kristalle sind **rhomboedrisch** (Natronsalpeter).

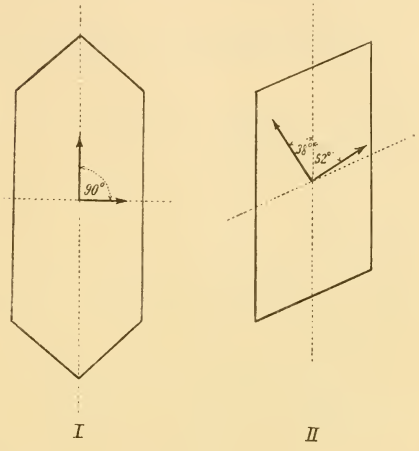


Fig. 8.
I Gerade Auslöschung. II Schiefe Auslöschung.

3. Alle Kristalle werden zwischen gekreuzten Nicols hell (oft nur grau) und farbig, sie sind optisch zweiachsig:

   a) alle besitzen gerade Auslöschung, sie sind **rhombisch** (Chlorblei);

   b) die meisten besitzen schiefe, einige gerade Auslöschung, sie sind **monoklin** (Gips);

   c) alle Kristalle zeigen schiefe Auslöschung, sie sind **triklin** (Kupfervitriol)."

Bezüglich der Verwendung der Gipsplättchen zur genaueren Charakteristik der doppelbrechenden Kristalle sowie bezüglich der Details in der Handhabung des Polarisationsmikroskops sei auf die bereits erwähnten Spezialwerke von Ambronn und Weinschenk verwiesen.

Literatur

zu p. 1 bis 35.

Ambronn, H., I. Anleitung zur Benutzung des Polarisationsmikroskops. 1892.

Behrens, H., I. Anleitung zur mikrochemischen Analyse. 2. Aufl. Hamburg u. Leipzig 1899.

—, II. Mikrochemische Analyse organischer Verbindungen. Heft I—IV, 1895—1897. Hamburg u. Leipzig.

Behrens, W., I. Hilfsbuch zur Ausführung mikroskopischer Untersuchungen im botanischen Laboratorium. Braunschweig 1883.

—, II. Tabellen zum Gebrauch bei mikrochemischen Arbeiten. Leipzig 1908. 4. Aufl. p. 112.

Bořicky, I. Elemente einer neuen chemisch-mikroskopischen Mineral- und Gesteinsanalyse. (Archiv d. naturw. Landesdurchforschung i. Böhmen. 1877. Bd. III. Prag.)

Borodin, J., I. Über die physiologische Rolle und die Verbreitung des Asparagins im Pflanzenreiche. (Bot. Ztg. 1878.)

Classen, A., I. Handbuch der qualitativen chemischen Analyse. 6. Aufl. Stuttgart 1905, p. 308.

Czapek, J., I. Biochemie der Pflanzen. 2 Bde. Jena 1905. Jetzt in 2. Aufl. begriffen.

Crüger, H., I. Westindische Fragmente. (Bot. Ztg. 1857, 15. Jg.)

Eder, R., I. Über die Mikrosublimation von Alkaloiden in luftverdünntem Raum. Diss. 1912, Zürich.

Emich, F., I. Mikrochemischer Nachweis von Alkalien und Säuren usw. (Sitzber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1901, Bd. CX, Abt. IIb, p. 612.)

—, II. Notizen über die Lackmusseide. (Ebenda, p. 1138.)

—, III. Über die Anwendung von Gespinstfasern in der mikrochemischen Analyse anorganischer Stoffe. (Liebe-Festschrift, p. 651).

—, IV. Lehrbuch der Mikrochemie. Wiesbaden 1911.

—, V. Ein einfaches Verfahren zur Ermittlung der Farbe kleiner Mengen von schwach gefärbten Flüssigkeiten usw. (Sitzber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1907, Bd. CXVI, Abt. IIb, p. 727.)

Faltis, F., I. Über die Gruppe der Opiumalkaloide und die Konstitution des Berberins und Morphins (Pharm. Post [Wien] 1906, No. 31—32.)

Fresenius, R., I. Anleitung zur qualitativen chemischen Analyse. 16. Aufl., Braunschweig 1895.

Fuchs-Brauns, I. Anleitung zum Bestimmen der Mineralien. Gießen 1907, p. 71.

Giltay, E., I. Über das Verhalten von Hämatoxylin gegen Pflanzenmembranen. (Sitzungsber. d. K. Akad. d. Wiss. Amsterdam. 1883, Sitz. v. 27. Okt.)

Grafe, V., I. Einführung in die Biochemie. Leipzig u. Wien 1913.

Greshoff, I. Ber. d. Deutsch. Pharm. Ges. III (1893).

Guy, W. A., I. On the melting and subliming temperatures of the principal poisons organic and anorganic, Pharm. Journ. and Trans., 1867, 2. ser. IX, p. 370.

Hanausek, T., I. Untersuchungen über die kohleähnliche Masse der Kompositen. (Denkschr. d. Kais. Akad. d. Wiss. i. Wien. 1911, Bd. 87, p. 94.)

Hartig, Th., I. Entwicklungsgeschichte des Pflanzenkeims. 1858, p. 154.

Haushofer, K., I. Mikroskopische Reaktionen. Braunschweig 1885.

Helwig, A., I. Die Sublimation der Alkaloide und ihre mikroskopische Verwertung für die differentielle Diagnose derselben. (Zeitschr. f. anal. Chemie, Bd. III, 1864.)

—, II. Das Mikroskop in der Toxikologie. Mainz 1865.

Höhnel, F. v., I. Über den Kork und verkorkte Gewebe überhaupt. (Sitzber. d. Kais. Akad. d. Wiss. i. Wien 1877, Bd. LXXVI, p. 663.)

Hof, A. C., I. Untersuchungen über die Topik der Alkaliverteilung in pflanzlichen Geweben. (Bot. Zbl. 1900, Bd. 83, p. 273.)

Klément, C., et Rénard, A., I. Réactions microchim. à cristaux et leur application en analyse qualitative. Bruxelles 1886.

Krasser, F., I. Untersuchungen über das Vorkommen von Eiweiß usw. (Sitzber. d. Kais. Akad. d. Wissensch. in Wien. 1886, Bd. XCIV, p. 140.)
Kraus, G., I. Botan. Mitteilungen. (Aus d. Abhandl. d. Naturforsch. Ges. z. Halle. Bd. XVI, 1885, p. 16.)
Kny, L., I. Die Abhängigkeit der Chlorophyllfunktion von den Chromatophoren und vom Cytoplasma. (Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. 1897, Bd. XV.)
Liesegang, R. E., Exogene Fällungen bei der histologischen Färbung. Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie. Bd. 31, Jg. 1914, p. 466.)
Mangin, L., I. Sur les réactifs jodés de la cellulose. (Bull. d. l. Soc. bot. de France 1888, t. 35, p. 421. Refer. in Zeitschr. f. Mikr. 1889, Bd. VI, p. 242.
Merck, V., I. Reagentien-Verzeichnis, enthaltend die gebräuchlichsten Reagentien und Reaktionen, geordnet nach Autornamen. 4. Aufl. Berlin 1916.
Meyer, A., I. Das Chlorophyllkorn. Leipzig 1883, p. 29.
Mitlacher, W., I. Zur Mikrochemie einiger Emodindrogen. (Pharm. Praxis, 1906, Heft 11.)
Molisch, H., Grundriß einer Histochemie der pflanzlichen Genußmittel. Jena 1891.
—, II. Das Vorkommen und der Nachweis des Indikans in der Pflanze usw. (Sitzber. d. Kais. Akad. d. Wiss. i. Wien, 1893, Bd. CII, Abt. I, p. 269.)
—, III. Indigo. In Wiesners Rohstoffe des Pflanzenreichs usw. 2. Aufl., 1903, Bd. I, p. 423.
—, IV. Aschenbild und Pflanzenverwandtschaft. (Sitzber. d. Akad. d. Wiss. i. Wien. Abt. I, 129, Bd. 1920.)
—, V. Das lebende Reagens. Vortrag, gehalten i. d. Jahressitzung d. Akad. d. Wiss. i. Wien am 1. Juni 1921 (Almanach).
Moll, J. W., I. Die Fortschritte der mikroskopischen Technik seit 1870. (Progres rei. bot. Jena 1908, Bd. II, p. 227.)
Naumann, E., I. Mikrotekniska Notiser. 1915, p. 49.
Nestler, A., I. Ein einfaches Verfahren des Nachweises von Thein und seine praktische Anwendung (Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Berlin 1901, Heft 2.)
—, II. Der direkte Nachweis des Cumarins und Theins durch Sublimation. (Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. 1901, Bd. XIX, p. 350.)
—, III. Ein einfaches Verfahren zum Nachweise der Benzoesäure in der Preißelbeere und Moosbeere. (Ebenda 1909, Bd. XXVII, p. 63.)
—, IV. Praktische Anwendungen der Sublimation. (Zeitschr. f. Unters. der Nahrungs- u. Genußmittel usw. 1903, Heft 9)
Nickel, E., I. Die Farbenreaktionen der Kohlenstoffverbindungen. Berlin 1890, 2. Aufl., p. 7.
Nowopokrowsky, J., I. Über die Chlorzinkjodreaktion der Zellulose. (Beih. z. Bot. Zbl. 1912, Bd. XXVIII, p. 90.)
Pfeffer, W., I. Über Aufnahme von Anilinfarben in lebenden Zellen. (Untersuchungen a. d. botan. Instit. z. Tübingen. 1886, Bd. II.)
—, II. Über Aufnahme und Ausgabe gelöster Körper 1890. (Abh. d. math.-physik. Kl. d. K. sächsischen Ges. d. Wiss. Bd. XVI, No. 2.)
Pregl, F., Die quantitative Mikroelementaranalyse organischer Substanzen. In E. Abderhaldens „Handbuch d. bioch. Arbeitsmethoden". Bd. V.
Richter, O., Die Fortschritte der botanischen Mikrochemie usw. Sammelreferat. (Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie usw. 1905, Bd, XXII, p. 194—261.)
—, I. Untersuchungen über das Magnesium in seinen Beziehungen zur Pflanze. I. Teil. (Sitzber. d. Kais. Akad. d. Wiss. i. Wien 1902, Bd. CXI. Abt. I. p. 171.)

Rochleder, I. Phytochemie. Leipzig 1854.
—, II. Chemie und Physiologie der Pflanze. Heidelberg 1858.
Rosenthaler, L., I. Pyroanalyse der Drogen. (Ber. d. Deutsch. Pharm. Ges. Bd. XXI, 1911, p. 338.)
Schiff, I. Liebigs Annalen der Chemie. 140, 131 (1866).
Schimper, A. F. W., I. Über Bildung und Wanderung der Kohlenhydrate in den Laubblättern. (Bot. Ztg. 1885, p. 739.)
Schwarz, F., I. Die morphologische und chemische Zusammensetzung des Protoplasmas. (Cohns Beitr. z. Biologie d. Pflanzen, 1892, Bd. V.)
Senft, E., I. Über das Vorkommen von „Physcion" in den Flechten usw. (Wiesner-Festschrift, p. 176.)
Solereder, H., I. Systematische Anatomie der Dikotyledonen. Stuttgart 1899.
Strasburger, E., I. Das botanische Praktikum. Jena 1897, 3. Aufl., p. 687.
Streng, I. Berichte der oberhessischen Gesellschaft f. Natur- und Heilkunde, Bd. XXII, XXIV.
—, II. Anleitung zum Bestimmen der Mineralien. Gießen 1890.
Tammes, T., I. Notiz über das Vorkommen von Dipsacan bei den Dipsaceae. (Rec. d. Trav. Bot. Néerl. 1911, Vol. VIII, p. 369.)
Thoms, I. Probleme zur Phytochemie. (Berliner Apothekerzeitung 1911.)
Tschirch, A., I. Die Chemie und Biologie der pflanzlichen Sekrete. Leipzig 1908.
Tunmann, O., I. Bemerkungen über einige Kryptogamen-Drogen. (Schweizerische Wochenschr. f. Chem. u. Pharm. 1910, No. 49, p. 749.)
—, II. Über angewandte Pflanzenmikrochemie und neue Untersuchungen auf diesem Gebiete. (Pharm. Post [Wien] 1911.)
—, III. Zur Mikrochemie der Colombowurzel (Apothekerzeitung [Berlin] 1912, No. 29).
—, IV. Zur Mikrochemie und Mikrosublimation einiger Methanderivate. (Ebenda, No. 99, 100.)
Weinschenk, E., I. Anleitung z. Gebrauch d. Polarisationsmikroskops. Freiburg i. Br. 1910.
Wettstein, R. v., I. Handbuch der systematischen Botanik. Leipzig u. Wien 1911, 2. Aufl., p. 31.
Wiesner, J. v., I. Über die chemische Beschaffenheit des Milchsaftes der Euphorbia-Arten. (Sitzber. d. Kais. Akad. d. Wiss. i. Wien 1912, Bd. CXXI, Abt. I, p. 79.)
—, II. Note über das Verhalten des Phloroglucins und einiger verwandter Körper zur verholzten Zellenmembran. (Ebenda 1878, Bd. LXXVII, Abt. I, Januarheft.)
—, III. Über die Einwirkung des Kupferoxydammoniaks auf tierische Gewebe usw. (Ebenda 1963, Bd. XLVIII, Abt. II, p. 199.)
—, IV. Über den mikroskopischen Nachweis der Kohle usw. (Sitzber. d. Kais. Akad. d. Wiss. i. Wien 1892, Bd. CI, Abt. I, p. 381.)
—, V. Die technisch verwendeten Gummiarten, Harze und Balsame. Erlangen 1869.
Zellner, J., I. Zur Chemie der höheren Pilze. (Sitzber. d. Kais. Akad. d. Wiss. i. Wien 1910, Bd. CXIX, Abt. IIb, p. 459.
—, II. Über die Chemie der Pilze usw. (Österr. Chemik.-Ztg. 1911, p. 137.)
Zimmermann, A., I. Die Botanische Mikrotechnik. Tübingen 1892, p. 138.
—, II. Die Morphologie und Physiologie des pflanzlichen Zellkernes. Jena 1996, p. 7.
Zopf, W., I. Die Flechtenstoffe. Jena 1907, p. 350.

B.

SPEZIELLER TEIL

A.

Anorganischer Teil.

a) Kationen.

1. Eisen.

Das Eisen ist im Pflanzenreiche allgemein verbreitet. Es ist wahrscheinlich in jeder Zelle vorhanden, kann aber gewöhnlich darin mit den üblichen Eisenreaktionen direkt nicht nachgewiesen werden, da es in organischer Bindung als sogenanntes maskiertes Eisen vorliegt. Fast alles Eisen der Pflanze kommt in solcher maskierter Form vor[1]) (Molisch I, 44 und II; E. Meyer I). Verascht man die Gewebe, so läßt sich das Eisen in der Asche leicht nachweisen. Neben diesem, gewissermaßen versteckten Eisen gibt es aber auch in der Pflanze, wenn auch viel weniger häufig, locker gebundenes Eisen bzw. anorganisches Eisen, das mit den gewöhnlichen Eisenproben direkt im Gewebe leicht nachgewiesen werden kann.

I.

Nachweis des locker gebundenen bzw. anorganischen Eisens.

1. Die Blutlaugensalzprobe.

a) Die Ferriverbindungen werden als Ferriferrocyanid Fe_4 3 Fe $(CN)_6$ (Berlinerblau) durch gelbes Blutlaugensalz gefällt. Diese Reaktion eignet sich deshalb so ausgezeichnet für histochemische Zwecke, weil das Berlinerblau in unlöslicher Form am Orte seiner Entstehung liegen bleibt und daher den Sitz des Eisens in der Zelle anzeigt.

Zarte Objekte, Algenfäden, dünne Schnitte legt man auf einem Objektträger in einen Tropfen gelber Blutlaugensalzlösung und fügt einen Tropfen verdünnter Salzsäure hinzu. Ferrisalze werden sich hierbei sofort durch eine Blaufärbung oder, wenn nur Spuren davon vorhanden sind, durch eine blaugrüne Färbung zu erkennen geben. Die beiden Reagentien dürfen in nicht zu konzentriertem Zustand verwendet werden, weil sie sonst leicht zur Bildung von an der Luft sich rasch bläuender Ferrocyanwasserstoffsäure Veranlassung geben könnten.

1) Dies wurde seinerzeit von C. Müller (I) bestritten, aber alle späteren Untersuchungen über das Eisen der Pflanze haben mir Recht gegeben.

Ich verwende in der Regel eine 2proz. Blutlaugensalzlösung und eine höchstens 5proz. Salzsäure. Die zu untersuchenden Objekte müssen zunächst von Kaliumferrocyanid ganz durchtränkt werden. Darauf muß besonders bei dickeren Pflanzenteilen, z. B. bei Samen und Blättern, wenn sie in toto untersucht werden sollen, geachtet werden. Man lasse zu diesem Zwecke die Objekte in kleinen verschließbaren Glasdosen mit gelber Blutlaugensalzlösung 1 bis 24 Stunden, je nach Bedarf, liegen. Dann läßt man die Salzsäure entweder direkt auf den Objektträger oder bei dickeren Objekten wieder in Glasdosen einwirken. Gewöhnlich tritt bei Gegenwart von Eisen schon unmittelbar nach der Übertragung in Salzsäure die Blaufärbung ein, nur bei dickeren Pflanzenteilen läßt sie wenige Minuten auf sich warten. Sowie die Salzsäure das Objekt völlig durchdrungen hat, ist ihre weitere Einwirkung zu unterbrechen und das Präparat nach dem Auswaschen in destilliertes Wasser einzubetten. Bei längerem Kontakt der Salzsäure mit dem Blutlaugensalz könnte die erstere aus letzterem schon allein Ferrocyanwasserstoffsäure $H_4 (CN)_6 Fe$ als weißen Niederschlag fällen, der sich an der Luft rasch oxydiert und hierbei in Berlinerblau übergeht.

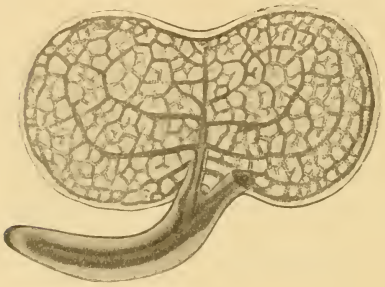


Fig. 9.
Sinapis alba.
Embryo, ein Kotyledo wurde weggeschnitten. Nach Ausführung der Blutlaugensalzprobe erscheint das früher unsichtbare Prokambiumnetz in Form eines blauen (in der Figur schwarzen) Geäders, weil in diesem locker gebundenes Eisen lokalisiert auftritt. Vergr. 18.

b) Die Ferroverbindungen. Diese prüft man mit Ferricyankalium oder rotem Blutlaugensalz. Es gibt mit Eisenoxydulverbindungen einen blauen Niederschlag von Turnbullsblau, mit Ferriverbindungen aber nicht. Ich verwende auch in diesem Falle eine 2proz. Lösung des Salzes und eine 5proz. Salzsäure. Bei kleinen Eisenmengen läßt die Reaktion einige Minuten auf sich warten. Indem man ein Gewebe zuerst mit gelbem und eine zweite Probe davon mit rotem Blutlaugensalz prüft, wird man alsbald sehen, ob locker gebundenes Eisen überhaupt und ferner, ob es in Oxyd-, Oxydul- oder in Oxydoxydulform vorhanden ist.

2. Andere Eisenreaktionen

bieten, obwohl manche an Empfindlichkeit nichts zu wünschen übrig lassen, nicht jene Vorteile wie die Blutlaugensalzprobe. Die Reaktion mit Rhodankalium (Weis und Wiesner I) deshalb nicht, weil das entstehende blutrote Ferrisulfocyanat in Lösung bleibt, sich im Präparat und Beobachtungstropfen rasch verteilt und mithin über den Sitz des Eisens in der Zelle nichts Bestimmtes aussagt. Zudem ruft die mit diesem Reagens zur Anwendung kommende Salzsäure mit verschiedenen in der Pflanze vorkommenden Farbstoffen, Chromogenen

und mit verholzten Membranen unter gewissen Umständen Rotfärbungen hervor, die leicht zu Täuschungen Veranlassung geben können.

Noch weniger geeignet für mikroskopische Zwecke sind die anderen bekannten Eisenreaktionen, so die mit Salicylsäure (Violettfärbung), Tannin (Schwarzfärbung), Hämatoxylin (Violettfärbung) und Schwefelammonium. Immerhin können die genannten Reaktionen, insbesondere die zuletzt erwähnte, in vielen Fällen, weil sie das Eisen lokal anzeigt, zur Kontrolle neben der Blutlaugensalzprobe mit Vorteil herangezogen werden.

Beispiele. Als Objekte, die sich für den Eisennachweis besonders eignen, führe ich an: Die Eisenbakterien, die bekanntlich in ihrer gallertigen Scheide Eisenoxyduloxyd in reichlicher Menge führen (Molisch III), gewisse Algen, wie Conferva-Arten (Psichohormium), die ihre Membran mit Gürteln von Eisenoxyd bedecken, Closterium-Arten, deren Membranen oft reichlich Eisen führen, gewisse Flagellaten, z. B. Trachelomonas, die Eisenflechten, die Blätter von Fontinalis antipyretica, die Fruchtschale von Trapa natans und viele Samen. Gerade der direkte mikrochemische Nachweis des Eisens im Samen erscheint ungemein lehrreich und beachtenswert, wie aus folgendem Fall hervorgeht.

Der Samen von weißem Senf, Sinapis alba, besteht aus der Samenschale, aus den zwei Keimblättern und dem Würzelchen des Embryo. Nach der Quellung des Samens läßt sich der Embryo durch leichten Druck aus der Samenschale herausquetschen und in die einzelnen Teile zerlegen. Unterwirft man den Embryo oder dessen Organe der Blutlaugensalzprobe, so erhält man ein auffallendes und überraschend schönes Bild: das vorher unsichtbare Prokambiumnetz der Keimblätter tritt als blaues zierliches Geäder mit großer Deutlichkeit in Erscheinung, genau so, als ob man dasselbe mit irgendeinem blauen Farbstoff ausgefärbt hätte (Fig. 9). Hier kann die Eisenprobe tatsächlich dazu benutzt werden, den Verlauf der Gefäßbündelanlagen zur Anschauung zu bringen (Molisch I, 37). Mit Schwefelammonium wird das Adernetz durch Bildung von Eisensulfid dunkelgrün (Wiener I, 45).

II.

Nachweis des maskierten bezw. organischen Eisens.

Mit Schwefelammonium. Man verfährt nach Macallum (I, 584 und II, 280) in der Weise, daß man einige durch Zerzupfen mit Gänsekielspitzen isolierte Zellen von in Alkohol gehärtetem Gewebe auf einem Objektträger in eine Mischung von gleichen Teilen frisch bereiteten Schwefelammoniums (aus 0,96 % starkem Ammoniak gemachten NH_4HS) und 50proz. Glyzerin bringt, mit einem Deckglas bedeckt und dann je nach Bedarf einige Tage bis einige Wochen bei 60° C hält. Während dieser Zeit wird das Eisen demaskiert und gibt sich als Ferrosulfid durch seine grüne bis grünschwarze Farbe zu erkennen. Auf diese Weise ist es ihm gelungen, das Eisen speziell im Chromatin der Zellkerne bei Tier- und Pflanzenzellen nachzuweisen.

Nach Gilson (I) läßt sich das maskierte Eisen in den Zellkernen auch nachweisen, wenn man die Kerne mit schwefelsaurem oder schwefeligsaurem Anhydrid eine Zeitlang behandelt; dann geben die chromatischen Teile mit Ammoniumsulfid sofort die grünlich-schwarze und mit einer sauren Lösung von Ferrocyankalium eine intensiv blaue Farbe.

Wiener (I) hat die Angaben Macallums einer kritischen Prüfung unterworfen und kommt zu dem Schlusse, daß dessen Befunde auf Versuchsfehlern be-

ruhen und das Eisen, das er in Zellkern und anderen Pflanzenobjekten nachweisen konnte, aus den verwendeten, nicht ganz eisenfreien Reagentien herrührte. Nach der ganzen Sachlage gewinnt Wiener die Ansicht, daß wir derzeit noch kein verläßliches Mittel zum lokalen Nachweis maskierten Eisens besitzen.

Vorläufig gelingt dieser Nachweis nur indirekt, indem man das Gewebe verascht und dann auf Eisen in gewöhnlicher Weise prüft. Besonders zu betonen ist, daß die bei den Reaktionen notwendigen Instrumente, wenn möglich, nicht aus Eisen bestehen und die Reagentien eisenfrei sein sollen. Anstatt des gewöhnlichen Skalpells und der gebräuchlichen Rasiermesser bediene man sich, wenn Schnitte notwendig sind, analoger Instrumente aus Aluminiumbronze. In Ermangelung solcher Messer gebrauche man nur ganz blanke Stahlmesser. Zum Übertragen der Objekte auf den Objektträger verwende ich anstatt der Stahlmesser kleine, zu einer Spitze ausgezogene Glasstäbchen. Wenn diese Vorsichten außer acht gelassen werden, so können leicht Täuschungen unterlaufen. Es können aus den Reagentien (Molisch II), aus dem Glase (Müller I), aus den Messern und Nadeln leicht Spuren von Eisen in die Zellen gelangen, was um so mehr zu beachten ist, als gewisse Teile, wie verholzte Membranen, Globoide und andere Zellbestandteile ein großes Speicherungsvermögen für Eisenverbindungen besitzen und dann die Anwesenheit von Eisen vortäuschen. Vgl. auch Zacharias (I).

2. Aluminium.

Nachweis.

1. Fällung als Cäsiumalaun, $Cs_2\,SO_4 \cdot Al_2\,(SO_4)_3 + 24\,H_2O$.

Nach Behrens (I, 99) versetzt man den Probetropfen mit einem Tröpfchen Schwefelsäure, dampft ab, nimmt den Rückstand in wenig Wasser auf und setzt nahe am Rande ein Körnchen Cäsiumchlorid hinzu. Bei sehr verdünnten Lösungen entstehen dann beim Verdunsten Oktaeder. Bei mehr als 1% Aluminium entstehen am Rande rechtwinklig-dendritische Formen. Es empfiehlt sich, an solchen Stellen ein Tröpfchen Wasser hinzuzufügen. Bei weniger als 0,2% Aluminium nimmt man, falls man gute Kristalle erhalten will, den Probetropfen vorher konzentrierter und läßt dann nach Ausführung der Reaktion an freier Luft oder im Exsikkator verdampfen. Der Probetropfen soll etwas freie Schwefelsäure, aber in keinem zu großen Überschuß enthalten.

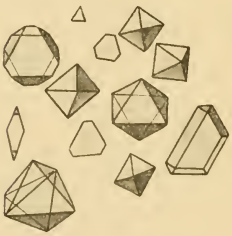


Fig. 10.
Kristalle von Cäsiumalaun.
Vergr. 285.

Nach Streng kann das Cäsiumchlorid passend durch Cäsiumsulfat ersetzt werden, weil es rascher Kristalle liefert und ein Übermaß von Schwefelsäure unnötig macht.

Um die Reaktion in Zellen oder Gewebeschnitten auszuführen, empfiehlt es sich nicht, die Schwefelsäure abzudampfen, weil dadurch der Schnitt zu sehr in Mitleidenschaft gezogen wird. Kratzmann (I), der sich speziell mit dem mikrochemischen Nachweis des Aluminiums in der Pflanze beschäftigte, geht aber in etwas anderer Weise vor, indem er ein fertiges Gemisch von gleichen

Mengen einer 2mol. (33%) Lösung von Cäsiumchlorid und einer 8mol. (39%) von Schwefelsäure verwendet. Wird mit diesem Reagens ein Tröpfchen einer Aluminiumsalzlösung mit einem gleich großen des eben erwähnten Gemenges zusammengebracht, so entstehen entweder sofort oder nach einigen Minuten die in der Fig. 10 abgebildeten Cäsiumalaunkristalle, zunächst am Rande des Tropfens, später bei reichlicheren Mengen von Aluminium auch in der Mitte. Es sind farblose Oktaeder von 8 bis 90 μ, die häufig eine tafelförmige Ausbildung zeigen. Die Empfindlichkeitsgrenze dieser Art des Nachweises liegt nach KRATZMANN bei 0,5 bis 0,3 μg Aluminium.

2. Fällung als Ammoniumaluminiumfluorid, $(NH_4)_3AlF_6$.

Ammoniumfluorid fällt nach BEHRENS (I, 100) im Probetropfen bei Gegenwart von nicht zu geringen Mengen Aluminium blasse, wohlausgebildete Oktaeder. Im Gegensatz zu der sehr empfindlichen und brauchbaren Cäsiumprobe hat die Ammoniumfluoridprobe bei Verwendung von Schnitten keine befriedigenden Resultate ergeben und kann daher hier nicht empfohlen werden.

Vorkommen.

Obwohl Aluminium kein notwendiger Bestandteil der Pflanzennahrung ist, ist es doch im Pflanzenreiche weit verbreiteter als man früher angenommen hat. Die Frage der Verbreitung bedarf aber nach ROTHERT (I) einer gründlichen Nachuntersuchung, da nur wenige mikrochemische Analysen vorliegen und die makrochemischen Untersuchungen nicht einwandfrei sind, indem man vor der Analyse die den Wurzeln anhängenden Bodenteilchen nicht sorgfältig entfernte und nicht beachtete, daß, wie ROTHERT (I) fand, die Aluminiumverbindungen gewöhnlich in den Wurzeln zurückgehalten werden, diese aber oft gar nicht analysiert worden sind.

Inzwischen ist die vorhandene Lücke durch die Arbeit von KRATZMANN (I) ausgefüllt worden. Er hat 130 den verschiedensten phanerogamen und kryptogamen Familien angehörende Pflanzen mikrochemisch untersucht und das Aluminium fast allgemein verbreitet gefunden. Beziehungen zwischen Aluminiumgehalt und systematischer Verwandtschaft ließen sich nicht feststellen. Die eine Art einer Gattung kann sehr viel, eine andere Art derselben Gattung sehr wenig oder gar kein Aluminium enthalten. Interessant ist, daß manche Kryptogamen Aluminium hauptsächlich in den Sporophyllständen (Equisetum arvense) oder in den fertilen Blattabschnitten (Aspidium filix mas) speichern.

Auffallend ist, daß manche Pflanzen — man könnte sie „Aluminiumpflanzen" nennen — ganz kolossale Mengen von Aluminium speichern. So die meisten nicht epiphytisch lebenden Lycopodien, einige Baumfarne, die Gattung Symplocos mit 46—48% Tonerde in der Asche der Blätter, die Proteacee Orites excelsa R. Br. mit 36—43%, in einem Falle sogar mit 79,61% Al_2O_3 in der Asche des Holzes.

Symplocos. RADLKOFER (I) fand in den Palisadenzellen der Blätter von Symplocos lanceolata (MART.) A. DC. eigentümliche Inhaltskörper, die er für eine Tonerdeverbindung hält. Sie stellen an Blattquerschnitten nach Aufhellung mit JAVELLEscher Lauge brockige, schollen- oder kuchenförmige farblose Körper dar von unregelmäßigem, bald mehr eckigem, bald mehr rundlichem Umriß. Sie liegen in den Palisadenzellen zu mehreren übereinander, lösen sich in konzentrierter Schwefelsäure ohne Bildung von Gipsnadeln, bestehen daher weder aus

Kalk noch aus Kieselsäure. Da Rumphius eine auf Amboina einheimische Symplocosart als Alaunbaum oder Arbor aluminosa bezeichnet und seiner Beschreibung die Bemerkung beifügt, daß dessen Rinde und Blätter an Stelle von Alaun als Beize beim Färben verwendet werden, kam Radlkofer auf die Vermutung, daß die fraglichen Körper ihrer feuerbeständigen Grundlage nach aus Tonerde bestehen dürften. Dafür sprach zunächst die Tatsache, daß der Inhaltskörper vor dem Glühen in Schwefelsäure leicht löslich war, nach dem Glühen aber nicht. Eine makrochemische Untersuchung zeigte, daß die Blattasche fast genau zur Hälfte aus Tonerde bestand. Da sich die fragliche Substanz außerdem mit alkoholischer Brasilin- und Alizarinlösung genau so wie Tonerdehydratpartikelchen färbt, so kommt Radlkofer zu dem Schlusse, daß die geschilderten Ablagerungen einer Tonerdeverbindung angehören.

Kratzmann hat mehrere Spezies der Gattung Symplocos untersucht, die von Radlkofer und Wehnert (I) beschriebenen Tonerdekörper aber nur bei Symplocos polystachya und S. lanceolata auffinden können. Kratzmann hält es nicht für erwiesen, daß die fraglichen Körper wirklich aus Tonerde bestehen und hält es für sehr wahrscheinlich, daß sie, da sie nach dem Glühen ganz unlöslich sind, auch Kieselsäure enthalten. Weitere Untersuchungen wären darüber erwünscht.

Orites excelsa R. Br. — Smith (I) fand in einer alten Stammscheibe von 3 Fuß Durchmesser eine reichliche Ablagerung von basisch-bernsteinsaurem Aluminium, $Al_2(C_4H_4O_4)_3Al_2O_3$. Die Holzasche enthielt gegen 80 % an Aluminium. In anderen Exemplaren dieses Baumes konnte er in der Asche gleichfalls viel Aluminium (38—43 %) nachweisen, hingegen nicht in den untersuchten verwandten Grevillea-Arten.

Ob diese auffallenden Anhäufungen von Aluminium eine Bedeutung für die betreffenden Pflanzen haben, läßt sich vorläufig nicht sagen, immerhin wird es gut sein, der Sache Beachtung zu schenken, zumal Fluri (I) und Szücs (I) höchst auffallende Einwirkungen verschiedener Aluminiumsalze auf die Pflanzenzelle beobachtet haben und Kratzmann (II) gezeigt hat, daß der Schimmelpilz Aspergillus niger im Wachstum und in der Fruktifikation und der Vorkeim von Equisetum arvense im Wachstum durch geringe Aluminiummengen gefördert werden, während das Wachstum der höheren Pflanze durch Aluminiumsalze, in Konzentrationen von 0,005% angefangen, gehemmt wird.

Fluri fand, daß die Aluminiumionen die Fähigkeit haben, Zellen zu entstärken und die Plasmolysierbarkeit der Zellen aufzuheben. Und Szücs zeigte, daß die letztere Erscheinung auf einer Erstarrung des Plasmas beruht, die durch die Aluminiumionen hervorgerufen wird.

3. Mangan.

Durch die Untersuchungen von Pichard (I) und Gössl (I) wurde die fast allgemeine Verbreitung des Mangans in den Pflanzen dargetan. Der letztere hat in den von ihm untersuchten sehr zahlreichen Kryptogamen und Phanerogamen überall Mangan mikrochemisch nachweisen können mit Ausnahme von Cuscuta epilinum. Dies ist eine bemerkenswerte Tatsache, da Mangan für die Pflanzen, soweit unsere Erfahrungen reichen, nicht notwendig ist. Allerdings kann es als Reizmittel das Wachstum begünstigen. Die Menge des Mangans kann in der Pflanze sehr groß sein. So bei den Koniferen. Weißtannenholz hat 28% und

Tannenrinde sogar 40% Manganoxydoxydul in der Asche. Sumpf- und Wasserpflanzen speichern Mn im allgemeinen in größerer Menge als Landpflanzen, auch enthält die Rinde zumeist mehr davon als das Holz.

Einige Wasserpflanzen, Elodea, Vallisneria und andere speichern, wie Molisch (IV) fand, auffallenderweise bei Kultur in Manganlösungen bei Gegenwart von Licht in ihrer Oberhaut Mangan, oft in solcher Menge, daß die betreffenden Epidermiswände tiefbraun erscheinen. Eine intensive Magananhäufung zeigen nach Molisch (I, 71; III, 46) die Eisenbakterien, wenn man ihnen anstatt Eisen Manganverbindungen gibt. Die Gallertscheiden dieser Bakterien werden infolge Manganeinlagerung viel dicker als bei Eisenspeicherung.

Peklo (I) fand auf einer Cladophoraart in großen Mengen eine Cocconeïs, die mit einer 1,3 μ bis 2,6 μ dicken oder noch dickeren braunschwarzen Hülle bedeckt war, die viel Mangan enthielt.

Nachweis.

1. Die Soda-Salpeterschmelze. Eine kleine Menge der Asche wird ungefähr mit gleichen Teilen Soda und Salpeter am Platinblech oder in der Platinöse geschmolzen. Hierdurch wird das Mn in Manganat übergeführt und gibt sich durch Grünfärbung zu erkennen.

2. Fällung als Ammoniummanganophosphat, $NH_4MnPo_4 + 6H_2O$.

Die Reaktion wird nach Behrens (I, 46) in der Weise ausgeführt, daß man das Natriumphosphat in Ammoniak löst und einen Tropfen dieser Lösung in den erwärmten und mit Ammoniumchlorid versetzten Tropfen der sauren Manganlösung bringt.

Nach Gössl (I) wird die Fällung zweckmäßig so ausgeführt, daß man einen Tropfen der Manganlösung mit einem Tropfen $NaHNH_4PO_4 + 4H_2O$ zusammenbringt und das Ganze in NH_3-Dampf einige Zeit stehen läßt. Unter der Decke eines braunen Niederschlags bilden sich dann die hemimorphen Kristalle von $MnNH_4PO_4 + 6H_2O$. Sie erreichen ein Länge bis 40 μ und gleichen vollkommen denen des Ammonium-Magnesiumphosphats und den analog zusammengesetzten der Doppelverbindungen von Fe, Co, Ni, unterscheiden sich aber von diesen dadurch, daß sie beim Auswaschen haften bleiben. Werden diese Kristalle hierauf mit Kalilauge und Wasserstoffsuperoxyd behandelt, so färben sie sich unter Beibehaltung ihrer Form tiefbraun (Behrens I, 47). Die Empfindlichkeitsgrenze liegt nach Behrens bei 0,3 μg und nach Gössl bei 0,018 μg Mn. Der letztere erhielt die optimale Leistung des Reagens bei der Verwendung von Tropfen einer 0,05% $MnSO_4$- und 0,5% $NaHNH_4PO_4 + 4H_2O$-Lösung.

Gössl fand auch eine Methode, die es ermöglicht, mikrochemisch Mn bei gleichzeitiger Anwesenheit von Co, Ni, Fe und Mg nachzuzuweisen.

Behandelt man nämlich die Ammoniummanganphosphat-Kristalle mit $^1/_{10}$ n-$KMnO_4$, so färben sie sich binnen wenigen Minuten tiefbraun, während die entsprechenden Doppelverbindungen der genannten Elemente, von denen übrigens Co und Ni für den Botaniker nicht in Betracht kommen, farblos bleiben. Die Färbung wird um so deutlicher, wenn nach erfolgter Bräunung der Reagenztropfen mit Wasser weggewaschen wird.

3. Die Reaktionen. Mangan als Oxalat oder als Superoxyd MnO_2 zu fällen, empfehlen sich für botanische Zwecke nicht. — Mit der Reaktion 1 kann das Mangan in Aschen, mit 2 in diesen, in frischen und trockenen Gewächsen, ja selbst in Schnitten nachgewiesen werden. Die Schnitte werden behufs Lösung schwerer löslicher Mn-Verbindungen in 0,1% HCl gelegt und nach Ausführung der Reaktion in einer feuchten Kammer mit NH_3-Dampf stehen gelassen. Bei Gegenwart von Mn zeigen sich den nächsten Tag die erwähnten Kristalle, die mit $KMnO_4$ behandelt, eine tiefbraune Farbe annehmen. Für Aschenuntersuchungen, z. B. der Blätter, verwende man Stücke von 1 cm^2.

4. Calcium.

Nachweis.

1. Mit Schwefelsäure wird Ca als Sulfat, $CaSO_4+2H_2O$ gefällt. Fügt man zu etwas Pflanzenasche ein kleines Tröpfchen von 1—3 proz. Schwefelsäure und läßt man verdampfen, so entstehen augenblicklich oder nach kurzer Zeit am Rande Gipskristalle. Bei etwas reichlichen Kalkmengen entstehen Nadelbüschel, bei geringen Mengen auch wohl ausgebildete Kristalle des monosymmetrischen Systems von verschiedenen Formen.

Vorherrschend erscheinen tafelförmige Kristalle, deren stumpfer Winkel nach Haushofer (I, 33) 127°31′ mißt. Ferner Zwillingsverwachsungen, deren einspringender Winkel 104° (resp. 76°) oder 130° beträgt und andere Formen.

Diese Reaktion gibt auch mit Schnitten gute Resultate, wenn man den Schnitt mit einem Tröpfchen 2proz. Schwefelsäure bedeckt und das Tröpfchen dann ohne Deckglas verdunsten läßt. Die Gipskristalle erscheinen zuerst am Rande des Tropfens und schließlich auf dem Gewebe, oft in sehr großer Zahl. Die Schwefelsäurereaktion ist sehr empfindlich und gestattet, den Kalk in einer kleinen Spur Asche, in einem Tröpfchen Leitungswasser, in kleinen Schnitten des Stengelparenchyms, ja sogar in einzelnen Zellen nachzuweisen.

Ist Kalk in nicht zu geringen Mengen vorhanden, so erhält man auch mit reiner Schwefelsäure nach ganz kurzer Zeit Gipskristalle, meist Nadeln oder Nadelbüschel, und diese Reaktion kann, wie später noch in einem besonderen Beispiel gezeigt werden soll, auch beim lokalen Nachweis gute Dienste leisten.

2. Mit oxalsaurem Ammon. Dasselbe bewirkt in Kalklösungen einen kristallinischen Niederschlag von Kalkoxalat $CaC_2O_4+H_2O$. Für den Nachweis des Calciums im Zellsaft eignet sich eine 5proz. Lösung von Ammoniumoxalat in einer 5—10proz. Essigsäure. Bei Behandlung von kalkhaltigen Gewebeschnitten mit diesem Reagens erhält man entweder sofort oder nach ganz kurzer Zeit einen Niederschlag, der aus kristallinischen Körnchen oder kleinen quadratischen Pyramiden oder Rauten besteht.

Gute Resultate, ja oft noch bessere erhält man auch, wenn man die Schnitte mit verdünnter (etwa 5%) Oxalsäure, der etwas Essigsäure zugesetzt wurde, behandelt. Es kommt hier oft zu einer guten Ausbildung der Kristalle.

3. Ammoniumkarbonat fällt aus Kalklösungen Kalkkarbonat. Diese Probe wurde von SCHIMPER (I, 211) für kalkreichere Gewebe empfohlen; sie steht aber an Empfindlichkeit den beiden Reaktionen 1 und 2 so nach, daß ich davon absehen möchte.

4. Mit Kalilauge oder einem Gemisch von Kalilauge und kohlensaurem Kali. Wenn man Gewebeschnitte der Pflanze, die gelöste oder ungelöste Kalkverbindungen enthalten, mit einem Tropfen halbgesättigter, d. h. 100proz. wässeriger Kalilauge behandelt, so treten nach einiger Zeit sehr charakteristische, hexagonale Plättchen oder Scheiben auf, die später in gefüllten Blüten sehr ähnliche Kristallaggregate übergehen können (Fig. 11). Diese Kristalle bestehen aus einem Doppelsalz von der Zusammensetzung $(2\,Ca\,CO_3 + 3\,K_2CO_3) + 6\,H_2O$.

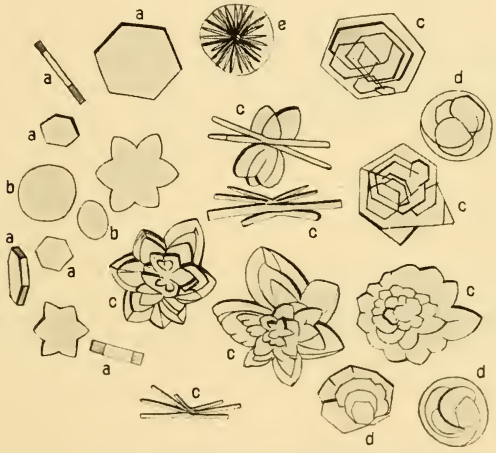


Fig. 11.

Kristalle des Kali-Kalk-Doppelsalzes ($2\,CaCO_3 + 3\,K_2CO_3 + 6\,H_2O$), wie man sie erhält, wenn man ein kalkführendes Gewebe mit Kalilauge oder mit einem Gemisch von Kalilauge und kohlensaurem Kali behandelt. *a* hexagonale Plättchen, *b* kreisrunde Scheibchen, *c* Täfelchen verwachsen mit Scheibchen, *d* verwachsene oder spiralig angeordnete Plättchen, *e* strahlig angeordnete Scheibchen oder Plättchen. Vergr. 350.

Noch rascher und sicherer erhält man diese Kristalle, wofern man anstatt der angeführten Kalilauge ein Gemisch von dieser halbgesättigten Lösung mit einer gesättigten von kohlensaurem Kali verwendet.

Diese Reaktion tritt nicht nur mit kohlensaurem Kalk, sondern auch mit verschiedenen anderen Kalksalzen ein: mit schwefelsaurem, salpetersaurem, phosphorsaurem, oxalsaurem, äpfelsaurem, weinsaurem, essigsaurem, buttersaurem usw. Die Reaktion ist sehr empfindlich. Ein einziges Tröpfchen der Wiener Hochquellwasserleitung gibt sehr deutlich die Probe. In einer einzigen Zelle (Brennhaar von Urtica urens) können oft hundert und mehr der erwähnten Sechsecke des Doppelsalzes Kalk-Kali-Karbonat entstehen (MOLISCH (XIX).

5. Mit Soda. Diese Probe (Molisch XX) besteht in der Fällung des Kalkes als Kalkkarbonat oder als Kalk-Natronkarbonat (Gaylussit) mit einer konzentrierten wässerigen Lösung von Soda. Molisch verwendet eine etwa 10proz. bis nahezu gesättigte Lösung von wasserfreiem Natriumkarbonat. Je größer die Konzentration der Lösung, desto rascher und reichlicher entstehen die Kristalle. Wird ein Querschnitt durch den Blattstiel, z. B. von Pelargonium zonale oder Primula obconica, mit der erwähnten Sodalösung behandelt und mit einem Deckglas bedeckt, so entstehen im Laufe einer halben Stunde oder später in zahlreichen Parenchymzellen viele farblose, stark lichtbrechende Kristalle, die sich, wenn das Präparat 24 Stunden in der feuchten Kammer liegen bleibt, vermehren und bedeutend vergrößern. Die Abbildung 12 zeigt die dabei entstehenden Gaylussit-Kristalle.

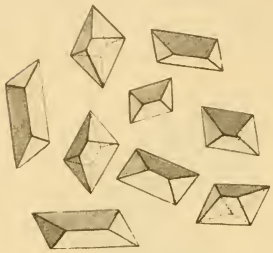


Fig. 12.
Gaylussitkristalle, aus dem Blattstiel-Parenchym von Primula obconica, erhalten durch Soda. Vergr. 250.

Neben diesen bilden sich mit Soda in sehr kalkreichen Geweben, z. B. denen der Crassulaceen, auch Sphärite von kohlensaurem Kalk.

Zur Einübung dieser sehr empfindlichen Kalkprobe seien Pflanzen mit saftreichem Parenchym empfohlen: Crassulaceen, Cacteen, Begonia, Primula u. a.

6. Mit Tartrat. Zum Nachweis gelöster Kalksalze verwendet Kisser (I) eine 10proz. wässerige Lösung von Seignettesalz oder ein entsprechend anderes neutrales Tartrat. Der frische Schnitt wird mit einem Tropfen des Reagens versehen, jedoch ohne Deckglas belassen. Bei größerem Gehalt erscheinen schon nach wenigen Sekunden, bei geringerem nach wenigen Minuten Kristalle von Calciumtartrat (Fig. 42).

Vorkommen.

Das Calcium ist für die meisten Pflanzen ein notwendiges Nährelement. Nur niedere Pilze und Algen können, wie zuerst Molisch (VII) und später Loew (I) und Benecke (I) gezeigt haben, ohne Kalk wachsen und sich vermehren. Daraus kann man schon auf die fast allgemeine Verbreitung dieses Elementes im Pflanzenreiche schließen. Kalk ist zweifellos in den meisten Zellen vorhanden. Er ist gewöhnlich gelöst, häufig auch in fester Form abgeschieden, und zwar in der Regel als Oxalat, dann als Karbonat, Phosphat, Tartrat und in seltenen Fällen als Sulfat (Kohl I).

a) Kalkoxalat.

Die meisten Kristalle, die sich in Pflanzenzellen vorfinden, gehören diesem Kalksalz an. Abgesehen von den Diatomeen, den Cyanophyceen und Equisetaceen wird es wenige Gruppen geben, die nicht Kalkoxalat aufweisen.

Seine Kristallgestalt ist sehr verschieden. Sie gehören entweder dem tetragonalen oder monoklinen System an, je nachdem sie 6 oder 2 Äquivalente Kristallwasser enthalten. Die aus der Quillaja-

Rinde rein gewonnenen monoklinen Kalkoxalatkristalle haben aber nach Netolitzky (III) nur ein Molekül Kristallwasser. Die gewöhnlichsten Formen sind aus der beistehenden Fig. 13 zu ersehen. *I* tetragonale Pyramide, *II* und *III* Kombination von Pyramide und Prisma, *IV* monoklines Rhomboeder, *V* rhombische Tafel, *VI* wahrscheinlich eine Kombination von positiver und negativer Hemipyramide mit der Basis, *VII* Kombination der rhombischen Tafel mit dem Klinopinakoid, *VIII* eine Kombination des Rhomboeders mit einer Hemipyramide, *IX* Zwillingskristall, dessen einspringender Winkel *a* nach Holzner (I) 141° 3′ beträgt. — Dazu gesellen sich noch verschiedene andere Formen: Raphiden, d. h. nadelförmige, an beiden Enden zugespitzte Kristalle, die einzeln oder zu Bündeln vereint die Zellen erfüllen, Drusen, Sphärite und Kristallsand (Fig. 14).

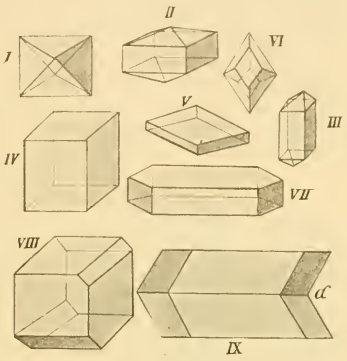


Fig. 13.
Kristalle von oxalsaurem Kalk. Siehe Text. Nach A. Zimmermann (I).

Oxalsaurer Kalk ist in Wasser und Essigsäure unlöslich, hingegen löslich in Salzsäure, Salpetersäure und Schwefelsäure ohne Aufbrausen. Bei der Behandlung mit Schwefelsäure wird das Kalkoxalat in Gips umgewandelt, der in Form von Nadeln oft schon an dem verschwindenden Kristall sich ansetzt. Konzentrierte Schwefelsäure oder zur Hälfte verdünnte wandelt den Oxalatkristall in der Wärme in ganz kurzer Zeit in körnigen oder nadelförmigen Gips um, so daß häufig an Stelle des Kalkoxalats schwefelsaurer Kalk zu liegen kommt.

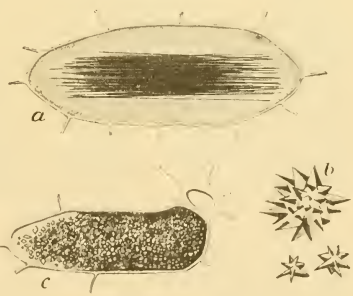


Fig. 14.
Kristalle von Kalziumoxalat. Vergr. 325.
a) Raphidenbündel aus dem Fruchtknoten von Galanthus nivalis. Das Bündel von Schleim und dieser von Plasma, in dem der Zellkern liegt, umgeben.
b) Drusen von Opuntia grandis.
c) Kristallsandzelle aus der Rinde von Sambucus nigra mit angrenzender Bastzelle.

Beim Veraschen verwandelt sich Kalkoxalat, ohne seine Form wesentlich zu ändern, in kohlensauren Kalk und bei längerem Glühen in Calciumoxyd. Die Asche vieler Pflanzenteile (Quillaja-Rinde) besteht zum nicht geringen Teile aus solchen kohlensauren Kalkkristallen, die vor dem Glühen aus Kalkoxalat bestanden (Fig. 15).

Nicht selten, z. B. beim Tabakblatt und vielen Gramineen, sind die Kristalle so klein, daß sie bei mikroskopischer Betrachtung leicht übersehen werden können. In diesem Falle leistet die Betrachtung im polarisierten Lichte ausgezeichnete Dienste. Die früher fast unsichtbaren Kriställchen leuchten zwischen den gekreuzten Nicols dann deutlich auf und werden hierdurch leicht kenntlich.

Will man einen Überblick über die Verteilung der Kalkoxalatkristalle in einem ganzen Organe oder wenigstens in größeren Partien eines Organes, eines Stengels oder Blattes haben, so empfiehlt es sich, als Aufhellungsmittel Chloralhydrat (s. p. 19) zu verwenden. Viele, namentlich dünne Blätter werden dabei so durchsichtig, daß die Kristallzellen ungemein deutlich hervortreten. Kristallisiertes Kalkoxalat tritt gewöhnlich im Zellinhalt auf, seltener in der Membran, so bei Dammara robusta (Blattparenchym), Thuja occidentalis (Phloem), Taxus baccata, Dracaena reflexa (Epidermis), Nymphaea (Grundgewebshaare) und anderen (H. C. Müller I).

Fig. 15. Kristalle in der Asche der Rinde von Quillaja Saponaria Mol. Die Kristalle, ursprünglich aus Kalkoxalat bestehend, werden beim Veraschen in Kalkkarbonat umgewandelt. Dazwischen Kohleteilchen u. amorphe Asche. Vergr. 180.

b) Kalkkarbonat

ist ziemlich verbreitet im Pflanzenreiche, wenn auch nicht so häufig wie Kalkoxalat. Es kommt gelöst und in fester Form vor, und zwar in letzterem Falle 1. der Membran aufgelagert, 2. der Membran eingelagert und 3. als Zellinhaltsbestandteil.

Aufgelagert findet man es bei Saxifraga-Arten, Plumbagineen und einigen Farnen, an deren Blättern dieses Salz durch besondere Drüsen ausgeschieden wird; bei gewissen Wüstenpflanzen, Tamarix-Arten, bei Statice, bei vielen niederen (Kalkalgen) und höheren Wasserpflanzen, in den Blatthöhlungen von Lathraea squamaria usw.

Eingelagert in der Membran kommt es vor bei den Cystolithen der Moraceen, Acanthaceen, Cucurbitaceen, Cannabineen, Combretaceen, in den Perikarpien von Celtis und Lithospermum, in zahlreichen Haaren der Cucurbitaceen, Cruciferen, Boragineen, wo das Kalksalz übrigens in den Haaren auch als Zellinhalt auftreten kann.

Alle untersuchten Cystolithen haben die Fähigkeit, salpetersaures und schwefelsaures Silber so stark zu reduzieren, daß sie sich nach kurzer Zeit schwarz färben. Auf diese Weise kann die Verteilung der Cystolithen im Blatte schon bei schwacher Vergrößerung sehr deutlich sichtbar gemacht werden. Die Ursache der Silberabscheidung ist der die Cystolithen inkrustierende kohlensaure Kalk. Die Reduktion der Silbersalze durch Kalkkarbonat kann dazu herangezogen werden, um den mikrochemischen Nachweis des kohlensauren Kalkes in der Pflanze zu stützen. Ob hier wirklich eine Silberreduktion vorliegt, bleibt vorläufig noch zweifelhaft, denn es könnte das Kalkkarbonat das Silberoxyd auch ausscheiden oder die reduzierende Wirkung organischer Stoffe wecken. Die Cystolithen verhalten sich auch anderen Metallsalzen gegenüber sehr auffallend. So färben sie sich in Goldchlorid rot bis blauviolett, in Eisenvitriol rostrot, in Nickelsulfat blaßgrün und in Kobaltchlorid

und Kobaltsulfat lila oder rosarot. Verursacht werden diese Färbungen durch das Niederschlagen der entsprechenden Hydroxyde infolge des alkalisch reagierenden kohlensauren Kalkes des Cystolithen (Molisch XXI).

Als fester Inhaltskörper tritt es auf im Plasmodium und Fruchtkörper vieler Myxomyceten, in Pseudomonas hyalina, Achromatium oxaliferum neben Schwefelkügelchen (Bersa I) und in den Perikarpien von Cerinthe minor (Kohl I). Bei einer nicht geringen Zahl von dikotylen Holzgewächsen (Ulmus campestris, Celtis australis, Sorbus torminalis, Pirus microcarpus, Fagus silvatica usw.) wird nach Molisch (VIII) im Stamm kohlensaurer Kalk abgelagert, und zwar in der Regel im Kernholze oder an solchen Orten, wo die Zellen ähnliche chemische und physikalische Eigenschaften erkennen lassen, wie sie dem Kernholze zukommen: in dem vom Kernholz umschlossenen Mark, im toten, verfärbten Wundholz und in toten, verfärbten Astknoten. Der CO_3Ca wird im Holze hauptsächlich in den Gefäßen abgesetzt, häufig findet man auch einzelne der benachbarten Holzelemente mit dem genannten Kalksalze erfüllt. Die Ausfüllung der Gefäße und Zellen ist meist eine so vollständige, daß man in der Asche (Fig. 16) gewöhnlich solide Abgüsse bemerkt, die nicht nur die Form des Lumens, sondern auf ihrer Oberfläche auch einen genauen Abdruck von dem Relief der Wand erkennen lassen. Der kohlensaure Kalk ist kristallinisch und weist mitunter eine konzentrische Schichtung (Anona laevigata) und eine strahlige Struktur auf (Acer).

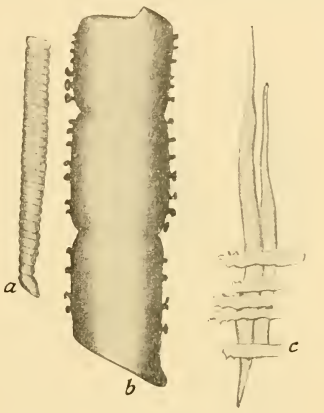


Fig. 16.
Ausfüllungen von Gefäßen und Zellen mit kohlensaurem Kalk. Aschenpräparat.
a) und b) aus dem Kernholz von Ulmus campestris.
a) Solider Kalkabguß eines Spiralgefäßes, b) eines Tüpfelgefäßes.
c) Solider Kalkabguß von Libriformfasern und Markstrahlzellen. Aus der Asche pathologischen Kernholzes von Acer rubrum. Vergr. 400.

Der Nachweis der Kohlensäure in den Karbonaten wird in der auf p. 72 auseinandergesetzten Weise geführt, namentlich durch Austreiben der Kohlensäure mit Salzsäure oder Essigsäure. Die Kohlensäure entweicht unter dem Deckglas in Form von Gasblasen. Die Cystolithen eignen sich, da sie, abgesehen von den durch Molisch (IX) im Marke von Goldfussia-Arten und Ruellia ochroleuca bekannt gewordenen kalkfreien Cystolithen, sehr stark mit kohlensaurem Kalk imprägniert sind, besonders gut zur Demonstration dieser Reaktion.

Bezüglich des Nachweises von Kalk bediene man sich der auf p. 48 und den ffg. angeführten Reaktionen.

Auf eine Eigentümlichkeit des Kalkkarbonats unter der Einwirkung von Oxalsäure, die ich beobachtet habe, sei hier aufmerksam gemacht. Wird festes Kalkkarbonat, z. B. ein Cystolith mit 5proz. Oxalsäure behandelt, so entstehen auf der Oberfläche verschieden gestaltete Protuberanzen (vgl. Fig. auf p. 73) in Form von

Kugeln, Säcken oder anderen Formen, die einige Zeit wachsen und lebhaft an die Bildung von Traubeschen Zellen erinnern. Es handelt sich wahrscheinlich um Niederschlagsmembranen von oxalsaurem Kalk, die durch Intussuszeption kurze Zeit wachsen; Cystolithen, Konkretionen von kohlensaurem Kalk auf Chara und anderen Wasserpflanzen und Kreide zeigen diese Eigentümlichkeit, die zur Diagnose von CO_3Ca mit Vorteil herangezogen werden kann.

c) Kalksulfat.

Sulfate kommen wahrscheinlich sehr häufig gelöst in den Zellen vor, können aber mit den gewöhnlichen Reaktionen (s. p. 48—50) nicht sicher nachgewiesen werden. In fester Form findet sich Sulfat sehr selten vor. Ein bekanntes Beispiel stellen viele

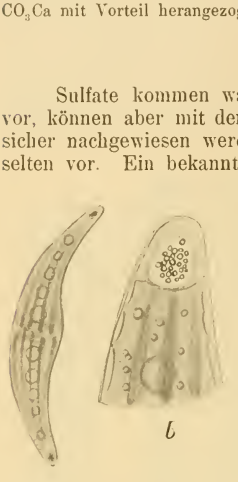


Fig. 17.
Closterium moniliforme.
a) Ganze Zelle mit den polaren Vakuolen. Darin Gipskriställchen.
b) Das Ende der Zelle mit der Vakuole und den Gipskriställchen, stärk. vergrößert. Vergr. 700.

Desmidiaceen dar. Im Zellinhalt, namentlich in den „Endbläschen" von Closterium (s. Fig. 17) und anderen Desmidiaceen kommen ein bis viele winzige Kriställchen vor, die sich in wimmelnder Bewegung befinden. Die letzteren sind bestimmt abgegrenzte, mit Zellsaft erfüllte Räume, aber keine Vakuolen. Wie schon De Bary wahrscheinlich gemacht und A. Fischer (II) bewiesen hat, bestehen diese Kriställchen aus Gips. Sie sind nach Fischer (II) in Schwefelsäure und Essigsäure gänzlich unlöslich, in Salzsäure und Salpetersäure in der Kälte sehr langsam, in der Hitze aber sofort löslich und werden in der Glühhitze weder verändert noch zerstört. Mit Chlorbaryum behandelt, verlieren sie ihre Löslichkeit in Salz- und Salpetersäure. Die Kriställchen sind doppeltbrechend. Wegen ihrer Kleinheit läßt sich ihre Gestalt nicht leicht beurteilen. Sie erscheinen, wenn sie überhaupt eine Form deutlicher verraten, in Gestalt kleiner Prismen oder Täfelchen, wie man sie auch bei Gipskriställchen findet. Abgesehen von Closterium, kommen Gipskriställchen auch bei anderen, aber nicht bei allen Desmidiaceen vor. Fischer (II) hat sie bei Cosmarium, Micrasterias, Euastrum, Pleurotaenium, Penium und Tetmemorus nachgewiesen. Manche führen in gesunden Zellen immer Gipskristalle, manche nur zuweilen und manche scheinen Gips nur gelöst zu enthalten. Jedenfalls scheint die Ausscheidung von festem Gips eine physiologische Eigentümlichkeit der Desmidiaceen darzustellen, über deren Bedeutung wir noch ganz im Unklaren sind. Es ist zu verwundern, daß die Anhänger der Statolithentheorie sich dieser Gebilde nicht mehr angenommen haben.

Tamaricaceae. Nach Brunswik (I) bestehen die besonders in den Blättern und jungen Stengeln, ferner in den Blüten, Samenanlagen und Samen der Tamaricaceen vorkommenden Kristalle nicht, wie man bisher angenommen hat, aus Kalkoxalat, sondern, wie ich mich gleichfalls überzeugt habe, aus Gips. Die Kristalle lösen sich schon in kaltem

Wasser, verdünntem Glyzerin, sind unlöslich in Eisessig und werden durch Glühen nicht verändert.

Es ist eine Eigentümlichkeit wachsender Gipskristalle, bei Zusatz von Eosin, Bismarckbraun und Haematoxylin zur Mutterlauge sich in charakteristischer Weise zu färben. Der Farbstoff wird zwar molekular aufgenommen, erstreckt sich jedoch nicht durch die gesamte Masse der Kristalle, sondern es färben sich nur die zu } 101 { — P ∞ gehörigen Sektoren so, daß die Kristalle durch die Färbung die sog. Sanduhrstruktur annehmen (Vater I). Dasselbe zeigen nach Brunswik die Einzelkristalle, die durch Umkristallisieren der ursprünglich in den Pflanzen vorhandenen Gipsdrusen gewonnen wurden. Die Gipskristalle finden sich im Mesophyll, besonders längs der Blattnerven entlang der Leitbündel, im Mark und in der Rinde (Fig. 18). Das Vorkommen der Kristalle erstreckt sich in stärkerem oder geringerem Maße auf sämtliche untersuchten Arten der vier Gattungen Tamarix, Reaumuria, Myricaria und Hololachne. Hingegen enthalten die Arten von Fouquiera keine Gips-, sondern Kalkoxalatkristalle. Die systematische Stellung dieser Gattung war schon lange zweifelhaft, bis man sie von den Tamaricaceen abgetrennt und als Repräsentanten einer eigenen Familie (jetzt Fouquieraceae) aufgestellt hat. Die Mikrochemie hat diesem Vorgang nun eine weitere Stütze gegeben.

Fig. 18.
Tamarix tetrandra,
Gipskristalle im Mark.
Vergr. 180.

Gipskristalle wurden von Radlkofer bei Capparideen aufgefunden (Solereder I. 82).

Von verschiedenen Beobachtern wurden noch bei anderen Pflanzen feste Gipsablagerungen in Zellen angegeben, aber diese Angaben konnten nicht immer einer strengeren Kritik standhalten. So finden sich in den Parenchymzellen der Blattstiele der

Marattiaceen kleine, tafelförmige Kristalle, die nach Hansen (I) aus Gips mit einer Beimengung von Magnesiumsulfat bestehen, die aber nach Monteverde (II) nichts anderes als Kalkoxalat darstellen. Hingegen soll sich nach dem letzteren Autor im Zellsaft dieser Pflanzen reichlich Gips vorfinden, der nach monatelangem Liegen in Alkohol sich in den Blättern von Angiopteris longifolia und Marattia cicutaefolia in Form großer Kugeln ohne sichtbare Struktur ausscheidet. Sie finden sich am reichlichsten in den Epidermiszellen der spaltöffnungsreichen Blattunterseite. Durch Zersetzung dieser Gipskugeln sollen sich andere bilden, die aus Kaliumsulfat und einem Calciumsalz bestehen. — Unter der Einwirkung von Alkohol bilden sich lange prismatische Kristalle von Gips in den Atemhöhlen der Spaltöffnungen bei Angiopteris.

Panicum crus galli. Monteverde (I) fand auch bei dieser Pflanze in der Epidermis getrockneter Blätter Gipssphärokristalle.

Hebeclinium macrophyllum. Hansen (I, 118) erhielt nach Behandlung mit Alkohol reichlich Sphärokristalle von Calciumsulfat im jungen Holz.

Saccharum officinarum. In den lebenden Zellen des Zuckerrohres finden sich kleine, leicht übersehbare Kriställchen von der Form rhombischer Täfelchen, die Hansen (I, 117) für Gips, Monteverde (I) aber für Kalkoxalat hält.

Wegen der auffallenden Widersprüche über die chemische Natur der fraglichen Gipskristalle wäre eine erneute mikrochemische Prüfung sehr erwünscht.

d) Kalkphosphat.

Obwohl Kalk und Phosphorsäure in der Pflanze zweifellos sehr häufig nebeneinander vorkommen, findet man phosphorsauren Kalk, abgesehen von den Globoiden in den Aleuronkörnern der Samen, selten in der lebenden Zelle fest ausgeschieden, wohl aber gewöhnlich gelöst vor. Nach den Untersuchungen verschiedener Forscher, Hansen (I), Leitgeb (I), Schaarschmidt (I), Kolderup-Rosenvinge (I), Re (I) und anderen kann man aber bei gewissen Pflanzen phosphorsauren Kalk in Form von Sphäriten zur Abscheidung bringen, wenn man die betreffenden Pflanzenteile auf längere Zeit in Alkohol einlegt. Unter diesen Umständen treten Kalkphosphatsphärite auf in den Knollen von Dahlia variabilis, in den kaktusähnlichen Arten der Gattung Euphorbia, in den oberirdischen Organen von Galtonia (Hyacinthus) candicans, Mesembryanthemum-, Stapelia- und Ceropegia-Arten, in den Blattstielen von Angiopteris evecta und Marattia cicutaefolia, in Agave mexicana und anderen.

Die Beobachtungen von Hansen wurden von Belzung (II) einer kritischen Revision unterzogen. Er kommt hierbei zu dem gut begründeten Resultat, daß Sphärite von reinem Calciumphosphat überhaupt bei den kaktiformen Euphorbien nicht vorkommen, sondern nur von Kalkmalat und Kalkmalophosphat.

Die anfangs amorphen, später radiär gestreiften Sphärite repräsentieren nach Belzung ein in Wasser lösliches Kalkmalophosphat, die prismatischen, gewöhnlich zu schönen Sphäriten angeordneten Kristalle bestehen aus reinem oder fast reinem Kalkmalat.

In einzelnen Fällen hat man auch bereits in der lebenden Zelle feste Calciumphosphatausscheidungen aufgefunden. So Hänlein und Councler (I) in den Blättern von Wasserkulturexemplaren von Soja hispida und Robinia Pseudacacia und Zimmermann (I, 311) im Blatte und Stengel einer unbestimmten Cyperus-Art.

Eigenschaften der Kalkphosphatsphärite. Sie sind farblos oder gelblich, lösen sich langsam in Wasser, Ammoniak, leicht in Salz-, Salpeter- und Schwefelsäure, in letzterer (2%) unter Bildung von Gipsnadeln. Beim Veraschen schwärzen sie sich zunächst wegen der Verkohlung der beigemengten organischen Substanzen und werden schließlich ganz weiß.

Mit 2proz. Schwefelsäure kann man den Kalk in den Sphäriten nachweisen. Auch Phosphorsäure läßt sich mit Ammoniummolybdat in Schnitten leicht konstatieren, aber es bleibt immer, da die Reaktion keine streng lokale ist, die Frage offen, ob die Phosphorsäure wirklich aus den Sphäriten stammt. Daher läßt sich auch die Vermutung nicht abweisen, daß vielleicht manche Sphärite, die man heute für Kalkphosphatsphärite hält, aus Kalkmalat oder einem anderen Kalksalz bestehen.

Zwischen gekreuzten Nicols zeigen sie ein dunkles Kreuz mit analoger Orientierung der optischen Achsen wie die Inulinsphärite und Stärkekörner. Rodier (I) fand im Stengel von Senecio vulgaris L. u. S. Cineraria DC. und in der Wurzel einiger Varietäten von Brassica Rapa (Alkoholmaterial) Sphärite, die viel Ähnlichkeit mit den Kalkphosphatsphäriten der kaktusähnlichen Euphorbien haben und sicher Kalk enthalten. Ob dieser an Phosphorsäure gebunden ist, vermag der genannte Autor nicht zu sagen.

Teakholz. Nach Thoms (I) finden sich in den Gefäßen des Kernholzes vom Teakholz (Tectona grandis L.) Ausscheidungen von Calciumphosphat vor und diese sollen den hohen Gehalt (29,6 %) der Teakholzasche an Phosphorsäure verursachen. Kohl (I, p. 156) bestreitet, daß die in Holz und Rinde vorkommenden Kristalle phosphorsaurer Kalk seien und hält sie für Kalkoxalat. Ich selbst habe von einer 5jährigen Stammscheibe Mark, Holz und Rinde untersucht und nur in der Rinde reichlich Kalkoxalat gefunden. Allein mir scheint, daß es sich bei den von Kohl und Thoms beobachteten Ablagerungen um zwei verschiedene Dinge handelt. Kohl scheint die von Thoms studierten weißen Ablagerungen, die vielleicht nur in altem Holze und unter besonderen Umständen auftreten, wahrscheinlich gar nicht vor sich gehabt zu haben. Die Sache bedarf nochmaliger Untersuchung, zumal man mir gelegentlich meines Aufenthaltes auf Java auf meine Anfrage hin versicherte, daß mineralische Ablagerungen in größerer Menge im Teakholze tatsächlich vorkommen sollen.

Globoide. In diesen steckt gleichfalls phosphorsaurer Kalk. In den geglühten Globoiden kann leicht Kalk und Phosphorsäure nachgewiesen werden.

Kalk in der Membran. Abgesehen von den bereits besprochenen Kalkvorkommnissen findet sich der Kalk in den Membranen noch in anderen Bindungen vor, die noch wenig bekannt sind. Der Umstand, daß in der Membran nach dem Glühen gewöhnlich Kalk nachgewiesen werden kann und daß der Kalk schon für viele Keimpflanzen unumgänglich notwendig ist, bestimmte Böhm (I, 12—13) zur Annahme, daß der Kalk für den Aufbau der Membran notwendig ist. „Um aus Stärke, dem Zucker usw. die Zellwand aufzubauen, ist der Kalk ebenso notwendig, wie für die Metamorphose des Knorpels im Knochen; der Kalk bildet das Skelett der Zellwand."

In neuester Zeit hat sich Hansteen (I) auf Grund interessanter Versuche dieser Böhmschen Auffassung vollends angeschlossen. Hansteen zeigte, daß in kalkfreien Lösungen an solchen Stellen, wo das ausgiebigste Flächenwachstum der Zellwände stattbat, die Wände aufgelöst und daher zerstört werden.

Nach Payen (I) bildet pektinsaurer Kalk und Kaliumpektat den Kitt, der die Gewebszellen zusammenhält. Nach Mangin (I) besteht die Mittellamelle hauptsächlich aus pektinsaurem Kalk und eine Isolierung der Zellen gelingt dadurch, daß man aus dem Calciumpektat zunächst durch alkoholische Salzsäure die Pektinsäure frei macht und in verdünnten Alkalien oder Alkalisalzen auflöst.

Mit Rücksicht darauf möchte ich hier eine Beobachtung von mir mitteilen, die in hohem Grade dafür spricht, daß in der Mittellamelle Kalk tatsächlich lokalisiert und gehäuft vorkommt. Wenn man nämlich die Epidermis der Zwiebelschuppe von Allium Cepa mit reiner Schwefelsäure behandelt, so bilden sich sofort

oder nach wenigen Minuten gerade über den Mittellamellen Kriställchen von Gips, und zwar so lokalisiert, daß ein dem Mittellamellennetz entsprechendes Gipsnadelnetz entsteht (Fig. 19). Erst etwas später bilden sich die Nadeln auch an den zur Oberfläche der Schuppe parallelen Wänden. Vielleicht rührt dieser Kalk von dem Calciumpektat her.

Die Interzellarsubstanz der Laminarien scheint das Calcium auch in größerer Menge zu enthalten, denn wenn man einen Schnitt in einen Tropfen einer Lösung von oxalsaurem Ammon einlegt, bedecken sich die Wände reichlich mit Kalkoxalatkristallen, während dies im Innern der Zellen nicht oder kaum der Fall ist (Kylin I, 346). — —

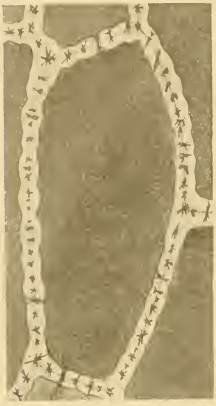


Fig. 19.
Nachweis des Kalkes in der Mittellamelle der Zellhaut der Epidermis bei der Zwiebelschuppe von Allium Cepa. Die Gipsnadeln erscheinen zuerst ganz lokal in der Mittellamelle. Vergr. 180.

Schließlich sei noch auf die jüngst von Molisch (XVIII) bei Capparis callosa und anderen Capparis-Arten aufgefundenen organischen Kalkkugeln hingewiesen. Sie finden sich fast in jeder Parenchymzelle des Blattstiels, abgesehen von den subepidermal gelegenen und den die Bastbelege umsäumenden Zellen, die Kieselkörper enthalten. Die Kalkkugeln bilden ähnlich wie Cystolithen (p. 73) bei Behandlung mit 5proz. Oxalsäurelösung kugelige und sackartige Protuberanzen, die an Traubesche Zellen erinnern und höchstwahrscheinlich aus Häuten von Kalkoxalat bestehen. An welche Säure der Kalk in den Kugeln gebunden ist, erscheint vorläufig nicht bekannt.

5. Magnesium.

Nachweis.

Zum Nachweis des Magnesiums gibt es viele Reaktionen, die auf der Fällung des Magnesiums durch verschiedene Säuren und Salze beruhen, die aber von sehr verschiedenem Werte sind. Richter (I) hat alle diese Reaktionen kritisch genau geprüft und kommt zu dem Ergebnis, daß die Reaktionen, die zur Ausfällung von $MgNH_4PO_4 + 6H_2O$ führen, bestens empfohlen werden können und daß die anderen Proben, z. B. die mit Kaliumpyroantimoniat, Ferrocyankalium, Oxalsäure, Kaliumoxalat und andere sich bei weitem nicht mit der erwähnten messen können, da sie zu wenig empfindlich sind und nur dann zur Kontrolle herangezogen werden sollen, wenn Mg in größerer Menge vorliegt.

Die Fällung des Mg als Magnesiumammoniumphosphat.

Nach Behrens (I, 43) kann als Fällungsmittel Natriumphosphat oder das bei Lötrohrversuchen gebräuchliche Doppelsalz von Natriumphosphat und Ammoniumphosphat, das sogenannte Phosphorsalz, benutzt werden.

Richter verfährt in folgender Weise:

1. Die zu überprüfenden Schnitte werden in Tröpfchen von 0,1% $NaHNH_4PO_4 + 12H_2O$ gegeben und die unbedeckten Präparate

werden sofort in eine feuchte Kammer gebracht, in der ein Schälchen mit konzentriertem Ammoniak behufs Erzeugung einer Ammoniakatmosphäre untergebracht ist. Oder man bringt den Versuchstropfen über den Hals einer Ammoniakflasche. Nach ganz kurzer Zeit (eine bis wenige Minuten) — das Reagens dringt wegen der schnellen Vergiftung der Zellen durch das Ammoniak rasch ein — entstehen die charakteristischen Schneeflocken-Kristalle und andere Kristalle (s. Fig. 20). Die Kristalle gehören dem rhombischen System an, sind hemimorph und zeigen die Kombination zweier oder mehrerer Domen mit der Basis. Sehr charakteristisch sind die Dach- und Sargdeckelformen (*a*) und die infolge ungleichmäßiger Fortbildung schmetterlingsartigen Gestalten (*b*). Häufig sind auch Kreuze (*c*), sechsstrahlig gefiederte Sterne (*d*) und trapezförmige und dreieckige Täfelchen (*e*).

2. In Tropfen z. B. von Milchsäften, Pflanzenextrakten, Blutungs- und Guttationssaft erfolgt der Magnesiumnachweis mit dem gleichen Reagens derart, daß man neben das mit Kappillarröhrchen aufgetragene Safttröpfchen ein ebenso großes Reagenztröpfchen gibt und die beiden Tröpfchen durch ein dünnes Glasstäbchen zur Berührung bringt. Gleich darauf wird der Objektträger in die Ammoniakkammer gegeben, worauf sich dann bei Gegenwart von Mg fast momentan in der Diffussionszone die erwähnten Schneeflockenkristalle zeigen.

Fig. 20.
Kristalle von Magnesiumammoniumphosphat.
Vergr. 285.

3. Pflanzenaschen werden in dieser Weise untersucht, daß die Asche zunächst mit verdünnter (10%) HCl aufgenommen, die Lösung mit einer Kapillare aufgesogen und auf den Objektträger aufgetragen wird. Dann verfährt man in der unter 2 angegebenen Weise.

Läßt man die Präparate länger stehen, so treten an Stelle der Schneeflockenkristalle auch Schwalbenschwanz- und Sargdeckelformen auf, die man, genügende Mengen von Mg vorausgesetzt, bei alleiniger Verwendung einer 5—10 proz. Lösung des Phosphorsalzes fast ausschließlich erhält.

4. Die NH_3-Reaktion. Da in vielen Fällen, insbesondere in Aschen, aber auch in Pflanzensäften und Gewebeschnitten anorganisch gebundene Phosphorsäure und Mg vorhanden ist, vermag man nach Richter (I) einfach durch Eintragen der im destillierten Wasser liegenden Schnitte oder der Lösungströpfchen von Aschen in die Ammoniakkammer das Mg und die Phosphorsäure direkt als phosphorsaure Ammon-Magnesia nachweisen.

Vorkommen.

Da sich das Mg innerhalb der Grenzen der Reaktionsempfindlichkeit (0,0012 μg nach Behrens) in Geweben, Pflanzensäften und Aschen in der Regel nachweisen läßt und da es für jede Pflanze, gleichgültig, ob grün oder nicht grün, unerläßlich ist, so dürfen wir wohl annehmen, daß es (zum mindesten zeitweise) ein Bestandteil jeder Zelle ist. Entweder in festgebundener organischer Form, wo es sich erst in der Asche nachweisen läßt, oder in locker gebunden organischer und in anorganischer Form. Organisch geknüpft ist es häufig an Eiweiß und an das Chlorophyll (Willstätter I). Die Notwendigkeit des Mg für Pilze und die Anwesenheit des Mg im Chlorophyllmolekül sprechen dafür, daß dem Mg in der Pflanze zum mindesten zwei verschiedene Funktionen zufallen müssen.

Nach Schimper (I, 227 ff,) geben das Blattmesophyll, das Cambium, die Vegetationskegel, überhaupt Meristeme und Siebröhrensäfte zumeist intensive Mg-Reaktion.

Ein Beispiel für eine außerordentliche Anhäufung von Mg ist nach Molisch (VI, 49) der Milchsaft von Ficus elastica. Läßt man einen größeren, frisch aufgefangenen Tropfen unterm Deckglas verdampfen, so scheiden sich zahlreiche runde oder rundlich viereckige Sphärite einer Magnesiaverbindung aus, die nicht selten

Fig. 21.

a) Sphärite einer Magnesiumverbindung aus dem Milchsaft von Ficus elastica. Vergr. etwa 60.
b) und c) Sphärite einer Magnesiumverbindung aus dem Milchsaft von Euphorbia mammillaris L. Vergr. etwa 300.

schon mit freiem Auge erkennbar sind. Analog verhält sich der Milchsaft vom Kuhbaum, Galactodendron utile H. B. e. K. und der von Euphorbia mammillaris (s. Fig. 21). Viel Magnesium steckt auch in den Globoiden der Samen.

Magnesiumoxalat. Ein zweites Vorkommen einer in fester Form abgeschiedenen Mg-Verbindung hat Monteverde (I) festgestellt. Sie tritt als Mg-Oxalat in Form stark doppelt-brechender, radialstreifiger Sphärokristalle in fast jeder Zelle in der Epidermis trockener Blätter zahlreicher Paniceen auf. Gefunden wurde es bei 13 Panicum-, 8 Setaria-, 5 Cenchrus- und 2 Paspalum-Arten. Bei Setaria viridis tritt es auch in frischen Blättern auf.

6. Kalium.

Nachweis.

1. Reaktion mit Platinchlorid. Mit einer 10proz. Platinchloridlösung geben Kaliumverbindungen, wenn reichlich vorhanden,

sofort einen lebhaft gefärbten kristallinischen Niederschlag; bei verdünnten Lösungen entstehen während der Verdunstung gelbe[1]), stark lichtbrechende Kristalle von tesseralem Kaliumchloroplatinat K_2PtCl_6: vorherrschend Oktaeder, Hexaeder und Kombinationen derselben, seltener Rhombendodekaeder, und kleeblattartige Aggregate (Fig. 22). Die Kristalle sind stark lichtbrechend, glänzend und erscheinen im reflektierten Lichte halbmetallisch. Sie sind im Wasser schwer, im Alkohol noch schwerer löslich.

Dieselbe Reaktion geben auch Verbindungen des Cäsium, Rubidium und Ammonium. Die beiden ersteren kommen im Pflanzenreiche so selten und in so minimalen Mengen vor, daß man von ihnen absehen kann, dagegen ist Ammonium sehr häufig und daher das Resultat bei Zellen und Geweben stets zweideutig. Nur die Reaktion mit der Asche gestattet, da Ammonium darin nicht erscheint, einen sicheren Schluß. Das Platinchlorid des Handels ist häufig kaliumhaltig. Man muß beim Ankauf darauf achten und vor der Benutzung jedenfalls die Platinchloridlösung durch Verdunstenlassen eines Tropfens auf die Anwesenheit von Kalium prüfen.

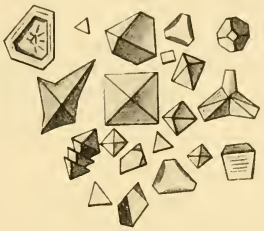


Fig. 22.
Kaliumchloroplatinat-Kristalle.
Vergr. 285.

Prüfung der Asche. Man setzt zur Probe ein kleines Tröpfchen 1 proz. Salzsäure, um die Kali-Verbindungen zu lösen und fügt dann das Reagens hinzu, ohne mit einem Deckglas zu bedecken.

Prüfung der Schnitte. Frische Schnitte läßt man in dem unbedeckten Reagenztropfen liegen. Schimper (I, 213) empfiehlt, um die Verdunstung zu beschleunigen, den Schnitt auf der Spiritusflamme bis zum Eintrocknen zu erwärmen und, während der Objektträger noch heiß ist, die Platinchloridlösung hinzuzufügen. Das Unangenehme dabei ist, daß der Schnitt schrumpft und lufthaltig wird.

Weit empfindlicher und intensiver finde ich die Reaktion, wenn man anstatt der wässerigen eine alkoholische Platinchloridlösung verwendet. Es entstehen dabei allerdings nicht so große Kristalle, allein sie bilden sich zumeist sofort in großer Menge und vielfach an Ort und Stelle in den Zellen, wodurch die Beurteilung der Verteilung des Kaliums in den Geweben wesentlich erleichtert wird. Zur Einübung empfehle ich Schnitte durch die Kartoffelknolle und die gelbe Rübe (Daucus Carota).

2. Von Behrens (I, 30) werden unter anderen noch die zwei Reaktionen namhaft gemacht: Die Fällung des Kaliums als Kalium-Phosphormolybdat mit Phosphormolybdänsäure und die Fällung als Kalium-Wismutsulfat. Da ich mit beiden Proben bei Geweben und Aschen keine befriedigenden Resultate erhalten habe, so gehe ich nicht auf sie ein.

3. Reaktion mit Natriumkobaltnitrit. De Koninck (I) benutzte diese Salzlösung, der etwas Kobaltchlorid und Essigsäure zu-

1) In anthokyanhaltigen Stoffen färben sich die Kristalle oft schön rot, weil sie den Farbstoff aufnehmen. So bei Oxalis Ortgiesiana.

gesetzt wurde, zum Nachweis des Kaliums. Macallum (I, 600; III) führte dieses Reagens in die Mikrochemie ein und gibt folgende Vorschrift für seine Bereitung. 20 g Kobaltnitrit und 35 g Natriumnitrit werden in 75 ccm verdünnter Essigsäure (10 ccm Eisessigsäure verdünnt auf 75 ccm) gelöst. Sobald die darauf entstehende Stickstoffperoxyd-Entwicklung aufhört, wird die Lösung auf 100 ccm verdünnt. Sollten die benutzten Chemikalien kaliumhaltig gewesen sein, so entsteht ein Niederschlag, der vor dem Gebrauche des Reagens abfiltriert werden muß. Ein Tropfen dieser klaren Lösung mit einer Kaliumsalzlösung zusammengebracht, erzeugt sofort einen orangegelben Niederschlag des Kaliumdoppelsalzes, der aus kleinen Kristallen, pentagonalen Dodekaedern besteht. Bei der gelben Rübe oder dem Stengel von Tradescantia kann man leicht aus dem Auftreten des Niederschlages und seinen Kristallen die Anwesenheit und Verteilung des Kaliums ermessen, aber wenn Kalium nur in sehr geringer Menge vorhanden ist, kann ein Niederschlag leicht übersehen werden. Man überführt ihn dann, um ihn kenntlich zu machen, in schwarzes Kobaltsulfid. Zu

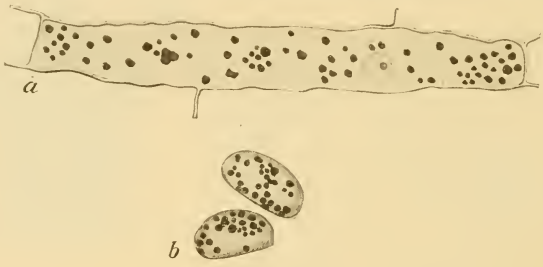


Fig. 23.
Nachweis des Kaliums mit Natriumkobalnitrit und Schwefelammonium. *a* Epidermiszelle von Zea Mais. Der Zellinhalt enthält schwarzes Kobaltsulfid, aber nicht im Kern. *b* Dieselben Reaktionen mit dem Pollen von Hyacinthus orientalis. Vergr. bei *a* und *b* 180.

diesem Zwecke muß zunächst das überschüssige Reagens aus dem Schnitte ausgewaschen werden. Man wäscht nach der Vorschrift von Macallum im Maximum 20 Minuten in eiskaltem Wasser von 1—4° C, in dem sich nun äußerst wenig von dem gebildeten Niederschlag löst. Bringt man hierauf zu dem gründlich gewaschenen Präparate einen Tropfen einer frisch bereiteten Mischung von gleichen Teilen Glyzerin und Ammoniumsulfidlösung — die letztere bereitet durch Einleiten von H_2S in Ammoniaklösung von 0,96 spezifischen Gewicht — so entsteht überall da, wo früher ein Niederschlag von Kaliumkobaltnitrit war, tiefschwarzes Kobaltsulfid (Fig. 23). Kreatin und Ammonium geben eine analoge Reaktion. Von Kreatin kann der Botaniker absehen, aber Ammonium könnte wohl zur Verwechslung mit Kalium Veranlassung geben, und in dieser Beziehung haftet der Reaktion dieselbe Schwäche an, wie der mit Platinchlorid. — Durch Glühen kann Ammonium allerdings entfernt werden, aber dann kann der Nachweis nur in der Asche geführt werden. Weevers (I, 202) half sich so, daß er von gleich

großen Portionen des Objektes (z. B. bei Allium und Spirogyra), die eine mit Wasser extrahierte und das Extrakt bis auf einige Zentimeter einengte, die andere Portion glühte und die Asche in gleichviel Wasser löste. Nach dem Filtrieren der Lösung wurde ein Tropfen des Filtrates mit Natriumkobaltnitrit versetzt. Fiel die Reaktion in beiden Fällen gleich stark aus, so konnte man auf völlige oder fast völlige Abwesenheit von Ammoniumsalzen schließen.

Ich habe gefunden, daß man die Bereitung des Natriumkobaltnitrit-Reagens sehr vereinfachen und sich beim Auswaschen der Präparate von dem eiskalten Wasser unabhängig machen kann, wenn man in folgender Weise vorgeht: Anstatt Kobaltnitrit[1]) und Natriumnitrit in den angegebenen Verhältnissen in Essigsäure zu lösen, verwende man gleich fertiges Natriumkobaltnitrit und gebe zu irgendeiner Gewichtsmenge soviel 10proz. Eisessigsäure, bis das Salz sich eben vollständig gelöst hat. Um den Überschuß des Reagens aus den Zellen oder Geweben zu entfernen, bade man anstatt in eiskaltem Wasser in 10proz. Essigsäure, in der sich der gelbe Niederschlag selbst nach mehreren Stunden nicht löst. Dann nimmt man den Schnitt etwa nach $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde heraus, schwenkt ihn ein paar Stunden noch in destilliertem Wasser hin und her und versetzt ihn dann mit Glyzerinammoniumsulfid. Nach meinen Erfahrungen verliert das Natriumkobaltnitrit-Reagens schon nach 1—2 Tagen seine Wirksamkeit und muß daher stets frisch bereitet werden.

Vorkommen.

Das Kalium ist ein integrierender Bestandteil jeder Pflanze, vielleicht jeder Zelle. Die in den Pflanzen vorkommenden Kalimengen sind sehr verschieden; schon Liebig bemerkte, daß Gewächse, die reich an Kohlehydraten sind, sich auch durch großen Kaligehalt auszeichnen (Kartoffel, Zuckerrübe, Weinstock), doch können auch Pflanzen, in denen es zu keiner auffallenden Anhäufung von Kohlehydraten kommt, reichlich Kali führen, wie z. B. Tabak, Hopfen, Wermut und Erdrauch. — Auf den großen Kaligehalt der Grasknoten hat Pierre (I), auf den der Meristeme, des Blattmesophylls, mancher Pollen und vieler Siebröhren (Cucurbita, Cucumis) hat Schimper (I, 227—228) hingewiesen. In Samen findet sich nach demselben Autor das Kalium in organischer Bindung, um bei der Keimung namentlich in dem gestreckten Stengelparenchym und dem der Blattrippen als Kaliphosphat zu wandern. Czapek (I, 332) hat mikrochemisch Kalium in Wurzelausscheidungen, Nestler (I) im Sekretwasser von Phaseolus multiflorus als kohlensaures Kali, und Belzung (I) in Form von Kaliumnitratkristallen intrazellulär in Glyzerinpräparaten bei Cucurbita Pepo nachgewiesen.

Macallum (I, 605) verdanken wir die auf mikrochemischem Wege gewonnene Tatsache, daß Kalium im Cytoplasma der Pflanzenzellen mit Ausnahme der Cyanophyceen überall anzutreffen ist, aber niemals im Kern. Diese Beobachtungen wurden von Weevers bestätigt. Macallum beobachtete vielfach, daß innerhalb der Zelle der Kaliumkobaltnitritniederschlag oft lokal gehäuft auftritt und schließt daraus auf eine in der intakten Zelle vorhanden gewesene Häufung einer Kaliverbindung. Weevers hält aber diesen Schluß wenigstens nicht für allgemein berechtigt, sondern glaubt

1) Kobaltnitrit geht nach einiger Zeit zum Teil in Nitrat über. Dies hat jedoch, so lange der größere Teil als Nitrit noch vorhanden ist, nichts zu bedeuten (Macallum I, 602). Hiergegen benutzte Weevers ohne Nachteil überhaupt nur Kobaltnitrat.

vielmehr, daß in vielen Fällen die lokale Häufung des Niederschlags im Zellinhalt erst sekundär zustande kommt. Ich möchte darauf hinweisen, daß eine lokale Anhäufung des Niederschlags in sehr saftreichen Zellen schon infolge der Schwerkraft erfolgen kann, ähnlich wie bei Stärkekörnern und kleinen Kalkoxalatkristallen.

Aus Weevers Arbeit, der das Natriumkobaltnitrit mit gutem Erfolge vielfach mikrochemisch verwertet hat, sei noch folgendes hervorgehoben. Die Vakuolen stellen den Hauptsitz des Kaliums dar, hingegen sind die Chromatophoren und das Chlorophyll kaliumfrei. Bei Phanerogamen ist die Kaliumreaktion besonders stark in den Vegetationspunkten und Reserveorganen. Im Vasalteil ist sie schwach, im Siebteil stark. Reichlich findet sich Kali bei den sekundären Geweben der lebenden Zellen des Holzes, d. h. in den Markstrahlen und im Kambium, sowie im unverholzten Rindenparenchym, hingegen ist die Reaktion in den Gefäßen und Tracheiden schwach.

Welche Rolle das Kalium in der Pflanze spielt, läßt sich gegenwärtig nicht sagen, doch ist es nicht unwahrscheinlich, daß es beim Aufbau des Plasmas in den Vegetationspunkten und beim Zustandekommen des Turgors im Spiele ist.

Natrium.

Nachweis.

Unter den von Behrens (I, 32) angeführten vier Reaktionen hat mir die relativ besten Dienste diejenige geleistet, die auf der Fällung des Natriums als Natrium-Uranylacetat, $NaC_2H_3O_2 \cdot UO_2(C_2H_3O_2)_2$, beruht.

Fig. 24.
Kristalle von Natrium-Uranylacetat. Vergr. 180.

Uranylacetat wird in der zehnfachen Menge stark verdünnter Essigsäure gelöst. Wird ein Tropfen dieser Lösung mit dem Salzrückstand des Versuchstropfens oder dem sehr eingeengten Versuchstropfen zusammengebracht, so entstehen zunächst am Rande dreistrahlige Kristallskelette, später gut ausgebildete Tetraeder von verschiedener Größe 10 μ bis 70 μ (Fig. 24). Die kleinen sind fast farblos, die großen lichtgelb. Die Ecken des Tetraeders sind oft durch das Gegentetraeder abgestumpft. — Das käufliche Uranylacetat ist gewöhnlich Nahaltig. Es läßt sich reinigen, indem man es in absolutem Alkohol in der Kälte löst und das Filtrat bis zum Eintrocknen abdampft (Schimper I, 215). — Sind lösliche Verbindungen von Mg, Fe, Co, Ni und Cu vorhanden, so entstehen bei der Reaktion wässerige Tripelacetate, die nur etwa 1,5% Natrium enthalten. Für den Phytochemiker kommt wohl nur das Magnesium in Betracht. Da nun wohl jede Zelle Magnesium enthalten dürfte, so kommt es oft zu dieser Reaktion, ja sie tritt bei geringem Gehalt an Natrium oder bei sehr großer Menge Magnesium ausschließlich auf. Die Kristalle des hierbei entstehenden Natrium-Magnesium-Uranylacetats haben die Formel $NaC_2H_3O_2 \cdot Mg(C_2H_3O_2)_2 \cdot 3UO_2 \cdot (C_2H_3O_2) + 9H_2O)$. Diese Verbindung tritt in Form kleiner schwachgelblicher oder farbloser rhomboedrischer Kristalle auf, von der Kombination RoR mit tetraedrischem Habitus oder R. — RoR vom Aussehen eines Oktaeders.

Soll das Natrium in Schnitten nachgewiesen werden, so legt man das Objekt in einen Tropfen des Reagens und läßt ihn unbedeckt verdampfen. Die Essigsäure des Reagens tötet die Zellen, die Natriumverbindungen treten dann aus den Zellen heraus und geben dann am Rande des Tropfens die beschriebenen Kristallformen.

Vorkommen.

Das Natrium ist im Pflanzenreiche ungemein verbreitet und in großer Menge gewöhnlich bei Meeres- und Strandpflanzen vorhanden. Doch findet es sich auch bei manchen Kulturgewächsen reichlich vor, so bei der Rübe (Beta), Kartoffel (Solanum), Spinat (Spinacia) und Kohl (Brassica). Es können daher diese Pflanzen mit Vorteil zur Einübung der Reaktion herangezogen werden. Obwohl dem Kalium verwandt, kann Natrium das Kalium doch nicht ersetzen und soweit unsere Erfahrungen reichen, können selbst typische phanerogame Halophyten wie Salicornia ihre Entwicklung ohne Na bis zur Fruchtbildung vollenden, ändern aber bei Ausschluß des Natriums ihren Habitus. Nur Diatomeen können nach Richter (II) und verschiedene Meeresalgen (Ulva, Gigartina, Ptilota, Iridaea und Prionitis) nach Osterhout (I) des Natriums nicht entbehren. Eine systematische mikrochemische Untersuchung über die Verteilung des Natriums in der Pflanze steht noch aus und wäre sehr erwünscht.

8. Ammonium.

Nachweis.

1. Der beste Nachweis des Ammoniaks beruht auf der Überführung in freies Ammoniak durch Kali- oder Natronlauge. Man verfahre auf folgende Weise: Auf einen Objektträger wird ein oben und unten gut abgeschliffener Glasring von 14 mm bis 25 mm innerer Breite und 5 mm Höhe aufgesetzt. Mitten auf den Grund der Glaskammer kommt ein kleines Stück des zu prüfenden Organes oder Gewebes und auf dieses ein das ganze Probeobjekt bedeckender Tropfen von Kalilauge. Hierauf wird der Glasring sofort mit einem Deckgläschen bedeckt, nachdem man zuvor auf die Unterseite desselben ein kleines Tröpfchen Platinchlorid gebracht hat (Fig. 25). Bei Gegenwart von Ammoniak entstehen nach einiger Zeit die charakteristischen Oktaeder von Ammoniumplatinchlorid (vgl. die Fig. 22). Nimmt man anstatt des Platinchlorid ein Tröpfchen Nesslerschen Reagens, so entsteht ein gelber Niederschlag. Als Übungsbeispiel wähle man Schnitte durch die Zwiebelschuppe (Allium Cepa), Blattstücke von Tradescantia viridis oder Stengelquerschnitte von Phaseolus multiflorus.

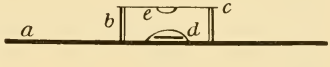


Fig. 25.
Kammer zum Nachweis des Ammoniaks.
a Objektträger, *b* Glasring, *c* Deckglas, *d* Gewebeschnitt mit KOH-Tröpfchen, *e* Platinchlorid-Tröpfchen.

Das geschilderte Verfahren hat insofern einen Übelstand, als Weevers (I, 65) gezeigt hat, daß auch aus Amiden Ammoniak durch Kalilauge freigemacht werden kann, allerdings erst nach 24—48 Stunden. Harnstoff, Allantoin, Tyrosin, Arginin geben keine, Leucin eine schwache, hingegen Asparagin eine deutliche Ammoniakbildung.

Um daher diesen Fehler zu vermeiden, verwendet WEEVERS anstatt der Kalilauge MgO und da dieses wegen seiner schweren Löslichkeit zu langsam in die Zellen eindringt, bringt er in die Glaskammer zur raschen Abtötung der Zellen noch Chloroform. Sein Verfahren besteht also in folgendem: Man legt auf den Boden der Kammer das zu prüfende Gewebestück, fügt MgO-Pulver und einen Tropfen Wasser hinzu und legt daneben einen kleinen Wattebausch mit einem Tropfen Chloroform. Nach der Tötung des Gewebes entweicht das eventuell gebildete Ammoniak und gibt mit dem Tropfen Platinchloridlösung auf dem Deckglas die Kristalle von $(NH_4)_2PtCl_6$.

KYLIN (I, 341) weist das Vorkommen von Ammoniumsalzen bei Meeresalgen in der Weise nach, daß die mit destilliertem Wasser abgespülten Thallusstücke in ein Uhrgläschen gelegt und mit verdünnter (5 %) Natronlauge übergossen werden. Hierauf wird das Uhrgläschen mit einem anderen bedeckt, auf dem ein angefeuchtetes rotes Lackmuspapier angeklebt ist. Nach 5—10 Minuten werden die Ränder des Papiers blau gefärbt und nach 30—45 Minuten ganz blau. Beim Trocknen nimmt es wieder die ursprüngliche rote Farbe an.

2. Reaktion mit NESSLERschem Reagens (vgl. p. 19). Bekanntlich geben geringe Spuren von Ammoniak mit diesem Reagens eine gelbe und bei Anwesenheit größerer Mengen eine braune Färbung. Von verschiedener Seite wird diese Probe zum direkten Nachweis des Ammoniaks im Gewebe der Pflanze empfohlen. In der Tat geben sehr viele Pflanzen eine Gelbfärbung; allein wenn man bedenkt, daß verschiedene Körper, wie Sarkin, Xanthin, Harnsäure, Kreatin, Kreatinin, Alloxan (NICKEL I, 95) eine schwefelgelbe Färbung geben und daß zahlreiche Pflanzenstoffe, z. B. viele Gerbstoffe und andere mit der freien Kalilauge des NESSLERschen Reagens schon allein eine gelbe Färbung annehmen, so folgt daraus, daß dieses Reagens zum direkten Nachweis des Ammoniaks im Gewebe selbst wohl nicht verwertet werden kann. Man ist daher vorläufig nur auf das unter 1 angegebene Verfahren angewiesen.

Vorkommen.

Ammoniumsalze genießen im Pflanzenreiche eine weite Verbreitung, finden sich aber meist nur in geringen Mengen vor. Der Blutungssaft der Weinrebe (Vitis), des Ahorns (Acer), der Birke (Betula) und der Runkelrübensaft geben nach Freimachung des Ammoniaks aus seinen Verbindungen einen starken Ammoniakgeruch. Viele Pflanzen wurden zu verschiedenen Zeiten auf ihren Gehalt an Ammoniak geprüft und fast überall wurde es gefunden. In frischen Pflanzen betrug der Ammoniakgehalt zwischen 0,05 bis 0,22 % (EBERMAYER I, 765).

Umfassende, auf die niedersten bis zu den höchsten Familien sich erstreckende, mikrochemische Untersuchungen über die Verbreitung des Ammoniaks verdanken wir WEEVERS (I). Er fand freies Ammoniak im Bereiche der Phanerogamen nur in den Wurzelknöllchen und in dem der Kryptogamen zuweilen bei Hutpilzen und Flechten.

Ammonsalze hingegen fanden sich überall mit Ausnahme der mykotrophen und insektenfressenden Gewächse. Verhältnismäßig viel Ammonsalze kommen bei Lauch und Kohlarten vor, nur Spuren oder gar keine zeigen die Pflanzen saurer mooriger Heideböden: Orchis-Arten, Drosera-Arten, Calluna, Erica, Pinguicula, Gentiana pneumonanthae usw. Von Interesse ist, daß die Wurzelknöllchen der Schmetterlingsblütler, der Myrica gale und Alnus glutinosa große Mengen enthalten.

b) Anionen.

1. Schwefel.

Sulfate werden gewöhnlich durch Überführung in Gips mittels Calciumacetat nachgewiesen. Ich habe mit dieser Reaktion in Gewebeschnitten keine brauchbaren, verläßlichen Resultate erhalten. Gewöhnlich entstehen keine Fällungen, wahrscheinlich weil die Sulfatlösungen in den Zellen zu verdünnt sind. Mit Bariumchlorid erhält man zwar im Parenchym häufig Niederschläge, aber diese sind meist amorph und so wenig charakteristisch, daß sie über die Gegenwart von Sulfaten nichts Sicheres aussagen. Dasselbe gilt von der Fällung als Bleisulfat durch Bleiacetat. Die Niederschläge sind in der Zelle gewöhnlich amorph, gar nicht charakteristisch und werden auch durch andere organische Körper veranlaßt.

Die von Schimper (I, 219) einigermaßen empfohlene Fällung des SO_4-Ion als Strontiumsulfat lieferte mir keine verwendbaren Ergebnisse für lebende Gewebe und auch über die von ihm vorgeschlagene Fällung als Nickelsulfat vermag ich nichts Günstiges auszusagen.

Behrens (I, 121) empfiehlt die Fällung durch Benzidinchlorhydrat und in der Tat gibt diese Substanz in wässriger Lösung selbst mit sehr verdünnten Sulfaten einen reichlichen Niederschlag von farblosen Nadeln und Blättchen. Schnitte durch Blätter von Mesembryanthemum Salmi, Sempervivum tectorum, Stengel von Tradescantia guianensis, Begonia sp. geben kristallinische, bei Mesembryanthemum schon makroskopisch deutlich als Trübung sichtbare Fällungen, die sich aus nadel-, plättchenförmigen, federigen oder anders geformten Kristallen zusammensetzen. Allein bei genauerem Studium stellt sich heraus, daß das Benzidinchlorhydrat zu Fällungen der verschiedensten Säuren neigt, die oft ähnlich sind und daher im Gewebe keinen eindeutigen Schluß auf Sulfate gestatten. Es sei z. B. erwähnt, daß Phosphorsäure, Apfelsäure, Oxalsäure und Valeriansäure kristallinische Fällungen geben, die, weil sie in der Zelle häufig vorkommen, leicht zu Verwechslungen Veranlassung geben können. Immerhin wird man dem Benzidinchlorhydrat in der Mikrochemie Aufmerksamkeit schenken müssen, da es vielleicht unter gewissen Kautelen zum Nachweis organischer Säuren wird verwendet werden können. Für Sulfate aber wird man nach einem neuen Reagens weiter suchen müssen und erst dann, wenn ein solches gefunden sein wird, wird man daran gehen können, das Vorkommen und die Verteilung der Sulfate mikrochemisch in der Pflanze mit Erfolg zu studieren.

Über das Auftreten von Gipskristallen in der Zelle s. p. 54.

Freier Schwefel. Eine der interessantesten phytochemischen Tatsachen ist das Auftreten von reinem Schwefel in den Zellen der farblosen und roten Schwefelbakterien. Sie leben im Meereswasser und süßem Wasser, wenn organische Substanz und eine gewisse Menge von Schwefelwasserstoff vorhanden sind und haben, wie Winogradsky (I und II) gezeigt hat, die merkwürdige Fähigkeit, den aufgenommenen Schwefelwasserstoff zu Schwefel zu oxydieren, in den Zellen in Form von Kügelchen abzuscheiden (Fig. 26) und diese schließlich zu Schwefelsäure weiter zu verbrennen. Je nach den Kulturbedingungen können Schwefelbakterien bald viel, bald wenig, bald gar keinen Schwefel führen.

Schon Cramer (I) und Cohn (I) haben gezeigt, daß die Kügelchen aus Schwefel bestehen. Sie sind nach Cohn unlöslich in Wasser und Salzsäure, hingegen löslich in einem Überschusse von absolutem Alkohol, in heißem Kali oder schwefligsaurem Natron. In chlorsaurem Kali, Essigsäure und in Salpetersäure löst sich der Schwefel schon bei gewöhnlicher Temperatur. Daß sich die Schwefelkügelchen auch in Schwefelkohlenstoff lösen, kann man leicht zeigen, wenn man die Schwefelbakterien zunächst eintrocknen läßt und dann mit Schwefelkohlenstoff behandelt. Dieser dringt dann leicht in die Zellen ein und löst unter Zurücklassung eines kleinen Restes den Schwefel auf.

Die Kügelchen bestehen nach Winogradsky (I, 518) und nach Corsini (I) nicht aus festem Schwefel, wie man früher gemeint hat, sondern repräsentieren auch bei gewöhnlicher Temperatur Tropfen halbflüssigen öligen Schwefels. Diese fließen beim Erhitzen auf 70° C zu großen Tropfen zusammen und verwandeln sich dann leicht in Schwefelkristalle. Bei Behandlung von Beggiatoafäden mit konzentrierter, wässeriger Pikrinsäurelösung durch 1 Minute und nachherigem Auswaschen in Wasser findet die Umwandlung der Tropfen in Schwefelkristalle schon nach 24 Stunden statt. Die Fäden bedecken sich dann zumeist mit monoklinen Prismen in Gestalt von sehr dünnen Täfelchen oder schwärzlichen rhombischen Oktaedern. Wenn man zu einer Lösung von Calciumpentasulfid Salzsäure zusetzt, so entsteht Schwefelmilch, deren Kügelchen, frisch unter dem Mikroskop untersucht, im wesentlichen dasselbe Verhalten wie die Schwefelkügelchen der Schwefelbakterien aufweisen.

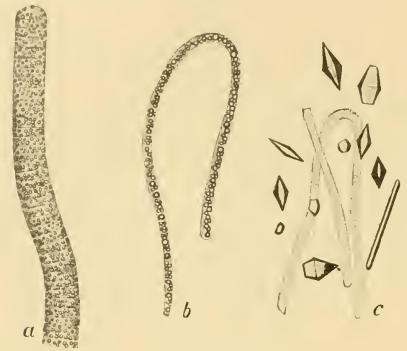


Fig. 26.
Schwefelbakterien.
a Beggiatoa mirabilis, *b* Beggiatoa alba, beide mit Schwefelkügelchen im Zellinhalt. *c* Abgestorbene Fäden von Beggiatoa alba, aus denen nach längerem Liegen im Glyzerin der Schwefel herausdiffundierte und außerhalb des Zellfadens auskristallisierte. Vergr. 285.

Ich habe die Beobachtung gemacht, daß sich die Schwefelbakterien außerordentlich schwer so in Dauerpräparaten erhalten lassen, daß die Schwefelkügelchen intakt bleiben. Mag man Fixierungsmittel anwenden oder nicht, mag man in Wasser, in Glyzerin oder in anderer Flüssigkeit präparieren, immer findet man nach längerer Zeit die Kügelchen in den Zellen verschwunden und außerhalb der Zellen in Schwefelkristalle umgewandelt. Nur in einer einzigen Flüssigkeit konnte ich jahrelang die Schwefelbakterien mit ihren Schwefelkügelchen tadellos schön erhalten, und das war eine gesättigte wässerige Zuckerlösung. Solche Präparate werden, um das Auskristallisieren des Zuckers zu verhindern, mit Lack verschlossen.

Mit den Schwefelkügelchen dürfen nicht die Kügelchen aus kohlensaurem Kalk verwechselt werden, die Gickelhorn in manchen Purpurbakterien jüngst nachgewiesen hat.

Nathansohn (I) hat eine neue Gruppe mariner Schwefelbakterien entdeckt, die die Fähigkeit haben, Thiosulfate zu Tetrathionsäure und Schwefelsäure zu oxydieren. Bei diesen findet aber niemals intrazellulär eine Schwefelausscheidung statt, sondern bloß extrazellulär. Die Kolonien dieser Bakterien umgeben sich mit einem Hof von Schwefelkügelchen, die genau so aussehen wie die der anderen Schwefelbakterien, z. B. eines Beggiatoafadens.

Hinze (I) beobachtete in Neapel mehrmals Oscillarien, die in stark nach Schwefelwasserstoff riechenden Kulturen auftraten und gleichfalls Schwefelkügelchen enthielten. Diese Kügelchen dürfen nicht mit den sogenannten Gasvakuolen Klebahns (I), die aber nach Molisch (X und XI) sicherlich nicht aus Gas bestehen, bei verschiedenen Cyanophyceen verwechselt werden. Molisch nennt sie Schwebekörperchen oder Airosomen. Sie lassen sich vorläufig nur negativ charakterisieren. Sie sind kein Gas, kein freier Schwefel, kein Eiweiß, kein Harz, kein Fett und kein Gerbstoff. Meiner Ansicht, daß es sich um kein Gas handelt, haben sich Fischer (I) und andere angeschlossen. Nach dem zuletzt genannten Autor veranlaßt angeblich ein neues, von ihm entdecktes Kohlehydrat, das Anabaenin, das Bild der sogenannten Gasvakuolen.

Nach Raciborski (II) bilden sich in den Hyphenenden von Aspergillus niger, wenn man diesen Pilz in einer 2proz. Lösung von thioschwefelsaurem Natrium zieht, zahlreiche Schwefeltropfen. Durch diese wird das Wachstum der Hyphen hochgradig gehemmt und die Fruktifikation verhindert. Auch bei Rhizopus nigricans konnte unter ähnlichen Verhältnissen eine Abscheidung von Schwefel in den Zellen beobachtet werden.

Anschließend daran sei noch an die eigentümlichen schwefelhaltigen Ölkörper erinnert, die Jönsson (I) in den Hyphen von Penicillium glaucum gesehen hat, als sich dieser Pilz in einer $^1/_{10}$-Normalschwefelsäure eines Glaskolbens entwickelt hatte. Hier traten in den Hyphen zahlreiche kugelförmige, stark lichtbrechende Körper auf, die denen der Schwefelbakterien äußerlich sehr ähnlich waren, aber ihrer Natur nach von ihnen wesentlich verschieden sind. Es handelt sich hier nach Jönsson nicht um reinen Schwefel, sondern um eine Verbindung von Schwefel mit Fett.

Schwefelverbindungen in Meristemen. Gola (I) behandelte Pflanzengewebe mit alkalischem Nitroprussidnatrium und fand, daß die Meristeme der Stamm- und Wurzelspitzen, der Prokambiumstränge der Adventivwurzeln von Vanilla planifolia, ferner die primären Anlagen der Gefäßbündel von Iris orientalis und Asphodelus albus und Pollenkörner eine rotviolette Färbung annehmen. Er bringt die Schnitte zunächst für einige Minuten in eine verdünnte Lösung von Ätzkali, läßt die überschüssige Lauge abtropfen und überträgt die Schnitte in einen Tropfen frischer Nitroprussidnatriumlösung. Färbt sich das Reagens infolge des überschüssigen Alkalis gelb, so überträgt er die Schnitte in einen neuen Reagenztropfen und wiederholt diese Manipulation so lange, bis sich die Nitroprussidnatriumlösung nicht mehr verfärbt. Es ist zu vermeiden, daß der Ausfall der Reaktion etwa durch die zu starke Einwirkung der Kalilauge beeinträchtigt wird. Sehr

schön gelang Gola die Reaktion mit jungen Trieben von Asparagus. Der Farbenton der Reaktion ist wesentlich verschieden von der braunroten Färbung, die Gerbstoffe mit dem Reagens geben.

Gola vermutet, daß es sich hier um die schwefelhaltige Aminosäure Cystein handle. Die Möglichkeit, daß die Reaktion in den Pflanzen von Cystein herrührt, soll, da ja diese Aminosäure die einzige bekannte schwefelhaltige Komponente des Eiweißes ist, nicht bestritten werden; immerhin bleibt die Sache aber, solange Cystin oder Cystein aus der Pflanze nicht makrochemisch gewonnen worden sind, hypothetisch.

2. Phosphor.

Nachweis.

1. Molybdänsaures Ammon ist ein gutes Reagens (vgl. p. 19) auf Phosphorsäure. Wenn man ein Tröpfchen eines löslichen Phosphates mit einem Tröpfchen dieses Reagens vermischt, so entsteht je nach der Menge der Phosphorsäure sogleich oder nach längerer Zeit, rascher beim Erwärmen auf 40 bis 50° C ein gelber Niederschlag $(NH_4)_3PO_4 \cdot 10MoO_3 + 3H_2O$, der aus Körnchen oder aus abgerundeten tesseralen Kristallen besteht, die meist eine Kombination von Würfel und Oktaeder darstellen (Fig. 27). Sie werden bis 22 μ groß und lösen sich in Ammoniak.

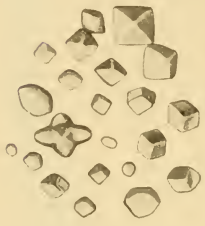


Fig. 27.
Kristalle von Ammoniumphosphormolybdat. Vergr. 350.

Der Übelstand, daß auch die Arsensäure dieselbe Reaktion und daß Kieselsäure einen ähnlichen Niederschlag gibt, fällt für den Phytochemiker weg, da Arsen in der Pflanze so gut wie fehlt und Kieselsäure zumeist nicht stören dürfte. Pflanzenachsen der verschiedensten Arten geben deutliche oder sehr deutliche, oft schon dem freien Auge sichtbare Reaktion. Mit Schnitten gelingt die Reaktion gleichfalls, wenn anorganische Phosphate vorhanden sind; wenn aber der Phosphor in organischer Bindung vorliegt, dann gibt die Probe erst nach der Veraschung ein positives Resultat. Der direkte Nachweis der Phosphorsäure in den Geweben kann durch die Gegenwart gewisser organischer Substanzen, z. B. des weinsteinsauren Kalis, verhindert werden, nach der Veraschung fällt natürlich diese Schwierigkeit hinweg. Wenn der Eintritt der Reaktion längere Zeit auf sich warten läßt, belasse man die Schnitte in der feuchten Kammer.

2. Die zweite Probe beruht auf der Fällung der Phosphorsäure als Ammoniummagnesiumphosphat, $NH_4MgPO_4 + 6H_2O$. Sie ist sehr empfindlich, zuverlässig und hat vor der vorigen den Vorteil, daß die Kristalle, die bereits gelegentlich des Nachweises des Magnesiums auf p. 58 geschildert und abgebildet wurden, häufig in den Zellen selbst entstehen und die Probe durch organische Substanzen nicht verhindert wird.

Ein geeignetes Reagens erhält man durch Vermischen von 25 Volumen konzentrierter wässeriger Magnesiumsulfatlösung, 2 Volumen konzentrierter wässeriger Chlorammoniumlösung und 15 Volumen Wasser.

Vorkommen.

Phosphor gehört zu den unumgänglich notwendigen Nährelementen, ist in den Pflanzen allgemein verbreitet und in jeder Zelle vorhanden. Er kommt ebenso wie das Eisen in leicht nachweisbarer Form und in fester organischer, d. h. maskierter Form vor.

Phosphate lassen sich mikrochemisch in den verschiedensten Pflanzen und Pflanzenteilen nachweisen. Große Mengen löslicher Phosphate fand SCHIMPER (I, 225) angehäuft im Parenchym der Stiele und Blätter der Roßkastanie, Forsythia viridissima, Allium Cepa, Ranunculus repens, Anemone japonica, Lamium album, Solanum nigrum, Senecio vulgaris und anderen. Die Phosphate finden sich nach SCHIMPER auch in der Wurzel angehäuft, hingegen nur in geringer Menge im Blattmesophyll.

L. IWANOFF (I) erweiterte SCHIMPERS Untersuchungen und fand unter anderem, daß Phosphate sich vornehmlich in jungen, wachsenden Pflanzenteilen anhäufen.

Die Verteilung der Phosphate innerhalb der verschiedenen Familien, biologischen Gruppen und innerhalb der Gewebe ist systematisch noch wenig untersucht und würde eine dankenswerte mikrochemische Aufgabe darstellen.

Über die in der Pflanze mitunter auftretenden ausgeschiedenen Phosphate vergleiche p. 56.

Maskierter Phosphor läßt sich durch die beiden angeführten Reaktionen nicht direkt nachweisen. Viele organische Phosphorverbindungen, wie die Proteïnphosphorsäure der Vitelline, die Glyzerinphosphorsäure der Lecithine, die Nukleoproteïde, Nukleïne, Nukleïnsäuren, die Globoide, das Phytin und andere gehören hierher. In der Asche dieser Stoffe kann dagegen der Phosphor bequem nachgewiesen werden. Es wäre aber für die Lehre der Zellchemie von hohem Werte, wenn man auch den maskierten Phosphor, am besten gleich an Ort und Stelle seines Vorkommens, zur Anschauung bringen könnte. An derartigen Versuchen hat es auch nicht gefehlt, allein bis jetzt haben sie leider zu keinem befriedigenden Resultat geführt, weshalb hier darauf nur ganz kurz eingegangen werden soll.

LILIENFELD und MONTI (I) haben zu diesem Zwecke die phosphorhaltigen Gewebeteile in die salpetersaure Lösung von Ammoniummolybdat gelegt. Das Phosphormolybdat wird dann an denjenigen Stellen, wo sich Phosphorsäure befindet, niedergeschlagen. Der entstehende gelbe Niederschlag muß, um wahrnehmbar gemacht zu werden, durch eine chemische Reaktion in einen gefärbten Körper verwandelt werden, und dazu benutzten sie die Reduktion durch Pyrogallol. Nach Behandlung der Gewebeschnitte mit dem Molybdänammoniumreagens wurden diese einige Minuten bis einige Stunden, um das Reagens zu entfernen, mit Wasser gewaschen und dann mit 20proz. Pyrogallollösung behandelt. Infolge der Reduktion der gebildeten Phosphormolybdänsäure soll je nach dem Phosphorgehalte eine gelbe, braune oder schwarze Färbung entstehen. Mit Hilfe dieses Verfahrens glaubten die beiden Verfasser in tierischen und pflanzlichen Zellen auch maskierten Phosphor nachweisen zu können, z. B. in Zellkernen, in Bakterien, Vitellinkristallen usw.

RACIBORSKI (I) hat die Methode LILIENFELDS und MONTIS kritisch geprüft und hat gefunden, daß die auftretende Schwärzung eine Folge der Reaktion des aus dem Präparate nicht vollständig entfernten Molybdänammoniums mit Pyrogallol ist

und mit dem Phosphorgehalt des Gewebes in keinem Zusammenhange steht. Raciborski erklärt die diffus gelbe Färbung, die die Gewebe mit dem Phosphorsäurereagens annehmen, durch die von der Salpetersäure des Reagens hervorgerufene Xanthoproteïnsäure-Reaktion. Er führt die durch das Pyrogallol erzeugte braune Färbung auf Reste des nicht ausgewaschenen Ammoniummolybdats zurück und zeigt, daß die Kristalle von Phosphorammoniummolybdat mit Pyrogallol überhaupt keine braune, sondern eine grüne Farbe annehmen. Dieser Einwand gilt auch für das modifizierte Verfahren Pollaccis (I bis III), der als Reduktionsmittel Zinnchlorür verwendete.

Macallum (I, 633, hier auch die übrige Literatur) machte bezüglich der Farbe des Reaktionsproduktes dieselbe Beobachtung wie Raciborski und verwarf aus diesem Grunde und anderen Gründen alle Beobachtungen von Lilienfeld und Monti über die Verteilung des Phosphors in den Zellen. Macallum war bestrebt, selbst eine Methode auszuarbeiten, durch die das nicht kristallisierte Phosphormolybdän sogar bei Gegenwart des ungebundenen Molybdäns mikroskopisch zur Anschauung gebracht werden könnte und glaubte dies durch den Gebrauch von salzsaurem Phenylhydrazin zu erreichen, „das in dem Reagenzglas die sonderbare Eigenschaft hat, die Molybdänverbindung auf eines der weniger gefärbten Oxyde in Gegenwart von Phosphorsäure oder Phosphaten zu reduzieren, aber welches in Gegenwart von Salpetersäure keine Wirkung auf Ammoniummolybdän allein hat" (p. 634). Aber er machte selbst schon auf die Mängel seiner Methode aufmerksam und kam unter anderem unter dem Eindrucke der kritischen Arbeiten von Scott (I) und Bensley (I) zu dem Schlusse, daß die ganze Frage von dem mikrochemischen Nachweis des maskierten Phosphors von neuem erforscht werden muß, eine Ansicht, der ich mich auf Grund eigener Erfahrungen nur anschließen kann.

3. Kohlensäure (und Kohlenstoff).

Kohlensäure.

1. Gasblasenentwicklung. Karbonate entwickeln auf Zusatz konz. Säuren, z. B. Salzsäure und Essigsäure, Gasblasen von Kohlensäure, die im Mikroskop unter Deckglas am Orte ihrer Entstehung beobachtet werden können. Es empfiehlt sich, konzentrierte Salzsäure anzuwenden, um die Gasblasenentwicklung zu beschleunigen, denn wenn sehr verdünnte Salzsäure benutzt wird, so kann die Kohlensäureentwicklung eventuell so langsam erfolgen, daß es zu keiner Gasblasenentwicklung kommt. Essigsäure hingegen ist, wenn es sich um Kalkkarbonat handelt, in mäßig verdünnter Form zu verwenden, da dieses sich in konzentrierter Essigsäure langsamer löst als in verdünnter (Zimmermann I, 59).

2. Fällung als Strontiumkarbonat. Nach Behrens (I, 97) fällt Strontiumacetat aus Lösungen von Karbonaten Strontiumkarbonat in charakteristischen Sphäroiden. Diese Reaktion hat mir nur bei festem Kalkkarbonat in der Pflanze Dienste geleistet. Cystolithen von Goldfussia isophylla oder Ficus elastica liefern, mit einer ziemlich konzentrierten Lösung von Strontiumacetat behandelt, auf ihrer Oberfläche oder in der nächsten Nachbarschaft zahlreiche Sphärite von Strontiumkarbonat (Fig. 28). Die Schnitte werden nach Behandlung mit dem Reagens mit einem Deckglas bedeckt und in der feuchten Kammer mehrere Stunden sich selbst überlassen. Die Reaktion verläuft sehr langsam und erfordert längere Zeit.

Kohlenstoff.

Obwohl in der Pflanze niemals reiner Kohlenstoff in irgendeiner Form vorkommt, so kann der Mikrochemiker vielleicht doch in die Lage kommen, angeflogenen Kohlenstoff z. B. in Form von Ruß, der sich auf oder in Gewebeschnitten eingefunden hat, auf seine Natur zu prüfen. Auch zum Nachweis von Kohleteilchen in alten Papieren, Papyrus, Mumienbinden, zum Nachweis von Ruß im atmosphärischen Staub wäre ein Reagens auf Kohlenstoff erwünscht. Wiesner (I) hat sich mit diesem Gegenstande eingehend beschäftigt und empfiehlt die Chromsäure-Schwefelsäure (vgl. p. 20) zum Nachweis von Kohle.

In diesem Reagens werden alle festen organischen Substanzen, die an dem Aufbau pflanzlicher und tierischer Gewebe teilnehmen, nach längerer oder kürzerer Zeit schon bei gewöhnlicher Temperatur durch Oxydation zerstört. Kohle aber erweist sich auch diesem Reagens gegenüber außerordentlich resistent. Die im Ruß vorhandenen Kohleteilchen werden innerhalb mehrerer Tage, Wochen, ja unter Umständen innerhalb mehrerer Monate nicht merklich verändert, während die öligen und teerartigen Begleitstoffe in Lösung übergehen. Wiesner (I) konnte die Kohlenatur uralter Tinten mit seinem Reagens nachweisen: Ein Stück eines alten, mit schwarzen Schriftzügen beschriebenen Papiers wurde auf dem Platinblech mit Chromsäure-Schwefelsäure behandelt. Nach einiger Zeit löst sich die ganze Papier- oder Gewebemasse auf und nur die Schriftzüge bleiben übrig. Erhitzt man nach Entfernung der Flüssigkeit das Platinblech, so verbrennt die zurückgebliebene tintenartige Substanz unter Hinterlassung von etwas Asche. Aus diesem Verhalten der schwarzen Tinte schließt Wiesner auf Kohle. Auf analoge Weise konnte von dem genannten Forscher nachgewiesen werden, daß das schwarze Lungenpigment, welches sich im Laufe des Lebens in den menschlichen Lungen ansammelt, gleichfalls aus Rußkohle besteht.

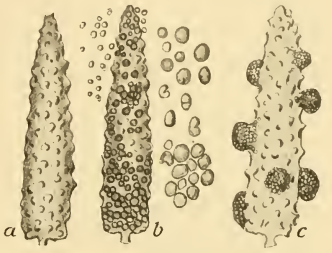


Fig. 28.
Cystolithen von Goldfussia isophylla. Vergr. 180.
a Normal, mit kohlensaurem Kalk inkrustiert.
b Mit Strontiumacetat behandelt; der kohlensaure Kalk des Cystolithen wird als Strontiumkarbonat in Form von Sphäriten gefällt, die den Cystolithen bedecken. Rechts daneben die Sphärite in stärkerer Vergrößerung (350).
c Mit 5proz. Oxalsäure behandelt. Es bilden sich an der Oberfläche blasenartige Protuberanzen.

Anthrazit, Steinkohle, Holzkohle, Ruß und Graphit verhalten sich wie amorpher Kohlenstoff, d. h. diese Substanzen werden durch das Reagens außerordentlich langsam angegriffen, im Gegensatz zur Braunkohle, die zunächst einen Zellulose enthaltenden Detritus hinterläßt und schließlich, abgesehen von mineralischen Beimengungen, vollständig zerstört wird.

4. Kieselsäure.

Nachweis.

1. Der Nachweis des Siliciums stützt sich auf die Fällung als Natriumfluosilikat, Na_2SiF_6. Bei leicht zersetzbaren Verbindungen erhält man nach HAUSHOFER (I) die charakteristischen Kristalle von Na_2SiF_6, indem man die zu untersuchende Probe auf einen gefirnißten Objektträger (vgl. p. 14) bringt, mit einem Tropfen mäßig starker Fluorwasserstoffsäure und etwas Chlornatrium versieht und dann stehen läßt. Je nach der Konzentration der Lösung bilden sich sofort oder nach einiger Zeit die hexagonalen Kristalle des Natriumfluosilikats: sechseckige Täfelchen, Sterne (40—70 μ), sechsstrahlige Rosetten und sechsseitige Prismen in Kombinationen mit der Pyramide (Fig. 29). Alle diese Kristalle zeichnen sich durch eine blaßrötliche Färbung aus.

Schwerer zersetzbare Siliciumverbindungen werden durch Zusammenschmelzen mit Soda zunächst aufgeschlossen und das Schmelzprodukt wird dann wie oben behandelt. Isomorph sind Borfluonatrium und Titanfluonatrium, beide kommen aber für den Phytochemiker nicht in Betracht. Die Kristalle des Kaliumfluosilikats erscheinen oft neben denen der entsprechenden Natriumverbindung, allein sie unterscheiden sich durch die Kristallform, denn sie sind sehr blasse farblose Würfel.

Fig. 29.
Kristalle von Natriumfluosilicat. Vergr. 285.

Die in einer Blei- oder Kautschukflasche aufbewahrte Flußsäure darf selbstverständlich nicht mit einem Glasstab auf den Objektträger gebracht werden, sondern man bedient sich hierzu einer Platinöse oder eines Kautschukstäbchens. Um die Objektträger vor Ätzung durch die Flußsäure zu schützen, empfiehlt es sich, sie mit Firnis oder Kanadabalsam vorher zu bestreichen. KÄRNER (I, 262) verwendet anstatt des Deckglases ein Stückchen Gelatinepapier, und um die Objektivlinse vor den Flußsäuredämpfen zu schützen, klebt er mittels Kanadabalsam ein Stückchen dieses Papieres auf das Objektiv.

Um gelöste Kieselsäure in den Zellsäften nachzuweisen, bringt man den ausgepreßten Tropfen oder dickere Schnitte auf den gefirnißten Objektträger und hängt das Objekt direkt über die Öffnung der Flußsäureflasche. Nach einiger Zeit entstehen bei Gegenwart von Kieselsäure und des Natriums die Kristalle von Natriumfluosilikat.

2. Kieselskelette durch Glühen. Die Kieselsäure ist oft in so großen Mengen in der Membran oder im Inhalt der Zelle vorhanden, daß man durch Glühen der betreffenden Objekte am Platinblech, oder wenn das Objekt zu zart ist, am Deckglas nach völliger Zerstörung der organischen Substanz sogenannte Kieselskelette erhält. Die Asche stark verkieselter Zellen zeigt genau den Umriß und die Form der ursprünglichen Zellen, oft mit allen Details ihrer feineren Struktur, wie dies ja bekanntlich bei den Kieselschalen der Diatomeen ganz besonders schön zu sehen ist. Man behandelt solche Skelette zunächst mit Salz- und Salpetersäure, wäscht mit Wasser und prüft schließlich auf Löslichkeit in Flußsäure und nach der Reaktion 1.

Es fällt sehr häufig, namentlich bei stark verkieselten Objekten, schwer, vollständig weiße Aschenpräparate zu erhalten, da die letzten Reste von Kohle nicht verbrennen und den Präparaten ein schwärzliches, kohliges Aussehen verleihen. Ein anderer Übelstand besteht darin, daß beim Glühen eines nicht sehr kieselsäurereichen Präparates die Kieselsäure mit den Alkalien bei stärkerem Glühen zusammensintert, viele Details der Gewebestruktur verloren gehen und man anstatt eines eleganten Kieselskelettes eine sandige und glasige Asche erhält. Um diesem Übelstande ganz oder wenigstens teilweise zu steuern, empfiehlt es sich nach Sachs, die Präparate vor dem Veraschen mit einem Tropfen konzentrierter Schwefelsäure zu behandeln und dann bis zum Weißwerden der Asche zu glühen. Ist in den Objekten zu wenig Kieselsäure vorhanden oder sind ihr gewisse andere Stoffe, z. B. Chloride oder Alkalien, beigemengt, so können die Kieselskelette auch bei dieser Methode mißlingen. Die besten Resultate erhält man, indem man die Objekte oder Schnitte mit Salz- oder Salpetersäure auslaugt oder in Schulzescher Mischung bis zur Entfärbung kocht, dann die verwendeten Substanzen mit Wasser und Alhohol auswäscht und schließlich glüht. Kieselskelette lösen sich, wenn sie vorher noch mit Salz- oder Salpetersäure behandelt wurden, in Flußsäure fast ganz auf.

3. Kieselskelette mit Chrom-Schwefelsäure. Nach Miliarakis (I) werden die Gewebeschnitte zunächst in konzentrierter Schwefelsäure im Becherglase verkohlt, bis sie vollständig geschwärzt sind, und dann 20% Chromsäurelösung hinzugefügt. Nach längerer Zeit wird die organische Substanz vollends zerstört und von der anorganischen bleibt nur die Kieselsäure in Form meist schöner Kieselskelette zurück, die dann in Flußsäure auf ihre Löslichkeit geprüft werden können. Von den organischen Substanzen halten sich die verkorkten Membranen und die Kutikula am längsten, schließlich werden aber auch sie zerstört.

Auch das auf p. 73 erwähnte und zum Nachweis der Kohle benutzte Chromsäure-Schwefelsäure-Gemisch leistet bei der Herstellung von Kieselskeletten ausgezeichnete Dienste und wurde zu diesem Zwecke schon von Crüger (I, 284) verwendet. Die Kieselskelette können dann in Wasser übertragen, hier ausgewaschen, durch Dekantieren gesammelt und dann weiter untersucht werden. Das Gelingen der Darstellung von Kieselskeletten durch Glühen oder durch Chrom-Schwefelsäure setzt natürlich eine gewisse Menge von Kieselsäure in der Membran bzw. im Inhalt der Zelle voraus; wenn aber der Kieselsäuregehalt unter eine gewisse Grenze sinkt, kann natürlich nach der Zerstörung der organischen Substanz keine geschlossene Kieselhaut mehr erhalten werden und man bleibt dann auf den Nachweis der Kieselsäure als Natriumfluosilikat angewiesen.

4. Mit Farbstoffen. Um amorphe gelatinöse Kieselsäure, die bei der Zersetzung vieler Silikate durch Säuren abgeschieden wird, nachzuweisen, bedient man sich bekanntlich auch einer Fuchsinlösung. Die zu behandelnden Splitter oder Ascheteilchen werden nach Haushofer (I, 121) auf dem Objektträger mit einem Tropfen Salzsäure erwärmt, diese abgegossen, das Objekt im Wasser samt dem Objektträger ausgewaschen, dann mit Fuchsinlösung benetzt und schließlich wieder ausgewaschen. Die Kieselsäure hat die Eigenschaft, den Farbstoff mit

großer Kraft festzuhalten. Behrens (I, 96) hat auf die Unzuverlässigkeit dieser Probe mit Recht hingewiesen und empfiehlt an Stelle des Fuchsins Malachitgrün. Der Botaniker wird nach meinen Erfahrungen nicht viel mit diesen Farbstoffen anfangen können, da sie häufig nur von den Begleitstoffen der verkieselten Membranen absorbiert und von der Kieselsäure gar nicht oder nur sehr wenig aufgenommen werden. Lebende Pinnularien nehmen in ihrer Membran bald viel, bald wenig Farbstoff auf, aber es ist die Frage, ob gerade die Kieselsäure den Farbstoff speichert oder ausschließlich speichert, weil Kieselgur, die wesentlich aus den Kieselschalen von fossilen Diatomeen besteht, von Malachitgrün nichts oder nur wenig absorbiert. Man kann also nicht in der Asche durch Malachitgrün Kieselkörper ausfindig machen, geschweige denn in einem Gewebe, da dieser Farbstoff hier die meisten Wände, gleichgültig ob verkieselt oder nicht, und auch Kern und Plasma färbt.

5. Die Aufhellungsmethode. Küster (I) hat vorgeschlagen, die verkieselten Gewebe mit Phenol aufzuhellen und hierdurch die Verkieselung, sei es der Membran, sei es des Zellinhalts, zur Anschauung zu bringen. Während die unverkieselten Membranen fast bis zur Unkenntlichkeit aus dem mikroskopischen Bilde verschwinden, bleiben die für Phenol undurchlässigen Kristalle, Drusen, die Kieselkörper und verkieselten Membranen sehr deutlich sichtbar und namentlich die beiden letzteren fallen durch einen eigenartigen rötlichen oder bläulichen Glanz auf. Küster verfährt so: „Etwa eine Messerspitze kristallisiertes Phenol wird über das Präparat geschüttet und über ihn geschmolzen. Die Flüssigkeit wird dann entfernt und durch Nelkenöl ersetzt, aus welchen dann das Präparat nötigenfalls unmittelbar in Kanadabalsam übergeführt werden kann.“ Um die Verteilung von Kieselkörpern innerhalb der Gewebe auf größeren Arealen mikroskopisch zu überschauen, wird man sich der Aufhellungsmethode nebenher mit Vorteil bedienen können. Sie leistet beim Suchen nach Verkieselungen im Gewebe vortreffliche Dienste, weil der eigenartige rötliche Glanz oft ganz lokale, auf winzige Pünktchen beschränkte Verkieselung andeutet und zur weiteren Prüfung ermuntert.

Naumann (I) empfiehlt als Ersatzmittel für Phenol Eugenol.

Vorkommen.

Die Kieselsäure ist, obwohl sie, abgesehen von den Diatomeen (Richter III) kein notwendiger Bestandteil der Pflanzennahrung ist, im Pflanzenreiche weit verbreitet. Spuren davon dürften wohl in den meisten Zellen vorhanden sein. Viele Pflanzen haben — ich verweise bezüglich des Vorkommens der Kieselsäure in der Pflanze auf die ausführliche Zusammenstellung bei Kohl (I) — im besonderen Grade das Vermögen, Kieselsäure zu speichern: Die Diatomeen, Equisetaceen, gewisse Farne, die Gramineen, Cyperaceen, Ericaceen, Podostemonaceen, viele Orchideen, Musaceen, Marantaceen, Aristolochiaceen, Chrysobalaneen, von Bäumen Alnus, Betula, Ulmus, Fraxinus, Quercus, viele Coniferen und Palmen. Die Kieselsäure wird abgeschieden 1. auf der Pflanze bzw. Pflanzenzelle, 2. in der Membran und 3. im Zellinnern.

1. Auf der Membran wird Kieselsäure in größerer Menge nur selten abgesondert und wenn, dann gewöhnlich vermischt mit anderen

organischen und anorganischen Substanzen. Die bei manchen Palmenblättern (Chamaedorea-Arten) und bei Kerria-Arten vorkommenden Wachsauflagerungen enthalten nach Kohl (I, 229) Kieselsäure beigemischt, die meisten Schüppchen auf den Blättern von Saxifraga-Arten, Plumbagineen und gewissen Farnen (Polypodium-Arten) bestehen aus Mischungen von Kalk-, Magnesia- und Natronsalzen mit geringen Mengen von Kieselsäure. Auch die riesigen, milchweißen Kieselsäurekonkremente, die sich dann und wann im Stengel tropischer Bambusa-Arten auf den Diaphragmen vorfinden und unter dem Namen Tabaschir (Cohn II) im Orient seit altersher als Heilmittel geschätzt werden, gehören hierher [1]).

Ferner wären hier auch die interzellularen Kieselsäureanhäufungen anzuführen, die Crüger (I) in der Cauto-(Moquilea-)Rinde beobachtet hat.

2. In der Membran kommt Kieselsäure sehr häufig vor und nicht selten in so großer Menge, daß man mehr oder weniger gute Kieselskelette erhält. In erster Linie sind hier als klassische Beispiele zu nennen: die Diatomeen, Equisetaceen, Gramineen und Cyperaceen. Ferner die Blätter vieler Gehölze: Ulmus campestris, Celtis australis, Ficus Sycomorus, Deutzia scabra, Magnolia grandiflora, Combretum argenteum, Petraea-Arten und viele andere. Von diesen Pflanzen erhält man oft ganze Epidermisstücke als Kieselskelette und diese zeigen, daß außer der Außenwand der Oberhautzellen auch deren Seitenwände mehr oder minder verkieselt sind. Bei glatten Epidermen ist eine mehr gleiche Verkieselung zu beobachten, wenn aber Knötchen oder vorspringende Leisten vorhanden sind, so erreicht die Verkieselung hier einen höheren Grad. Eigenartige verkieselte Membranverdickungen hat Zimmermann (II, 306) im Blatte von Cyperus alternifolius entdeckt. Trichome erscheinen oft verkieselt. Entweder wird die Verkieselung auf die Haare beschränkt (Urtica dioica, Campanula Cervicaria usw.) oder die Haare bilden Zentren der Verkieselung, von denen die Verkieselung der Epidermis ausgeht, so bei Deutzia scabra, Rubia tinctorum, Galium Aparine, Parietaria erecta, Elymus arenarius usw. Oder jedes Haar ist von einer verkieselten, aus Oberhautzellen bestehenden

1) Gelegentlich meines Aufenthaltes auf Java hatte ich mich auch dafür interessiert, zu eruieren, ob bei den tropischen Bambusa-Arten das Auftreten des Tabaschirs etwas Normales oder etwas Pathologisches sei. Ich habe viele Stämme in verschiedenem Alter untersucht, aber Tabaschir im allgemeinen selten gefunden. In den meisten Fällen waren gerade diejenigen Stämme, die Tabaschir führten, in den betreffenden Internodien, sei es durch eine Sprengung des Stammgewebes, sei es durch einen Larvengang eines Insektes verwundet. Da ich bei anderen Pflanzen (Acer, Ulmus usw., vgl. p. 53) im Wundholz oft eine hochgradige Verkalkung beobachtet habe, kam ich auf die Idee, daß die Abscheidung von Tabaschir möglicherweise auch etwas Pathologisches sein könnte und machte daher zahlreiche Versuche. ½—1 m hohe, wachsende Bambusa-Schößlinge wurden derartig verletzt, daß in einzelnen Internodien je ein Stich mit der großen Klinge eines Federmessers (die Fläche desselben vertikalradikal gedacht) in das Internodium senkrecht zur Längsachse bis zur Markhöhle gemacht wurde. Nach etwa 5 Wochen zeigten die Stämme in der Regel nur in den verletzten Internodien auf den Diaphragmen oder in der Nähe der Wunde Tabaschir. Bambusa hat einen großen Blutungsdruck; wenn also eine Verwundung des Stammgewebes, sei es auf natürlichem oder künstlichem Wege auftritt, so wird sich hier kieselsäurereiches Blutungswasser in der Nachbarschaft der Wunde und auf dem Diaphragma ansammeln und beim Verdunsten Kieselsäure, d. h. Tabaschir, zurücklassen. Ich habe so die Überzeugung gewonnen, daß Tabaschir zwar auch normal, in der Regel aber als Folge einer Verwundung abgeschieden wird.

Scheibe umgeben (viele Boragineen, Cucurbitaceen, Compositen und andere).

Die eigenartigen Brennhaare von Urtica, Laportea und Loasa verdanken ihre außerordentliche Sprödigkeit und Zerbrechlichkeit einer Mineralisierung der Membran durch Kieselsäure oder durch kohlensauren Kalk oder durch beide. Sie werden hierdurch ihrer Aufgabe, als Schutzwaffe zu dienen, gerecht. Sie gleichen feinen Glaskapillaren und erscheinen infolge ihrer Zerbrechlichkeit so recht geeignet, Verwundungen hervorzurufen. Bei Urtica dioica und Urtica urens sind die Wandungen des Haarköpfchens und der daran grenzenden Teile in ihrer ganzen Dicke verkieselt, die übrigen Teile sind bis zum Bulbus des Haares mit kohlensaurem Kalk imprägniert (Haberlandt I). Bei Loasa papaverifolia und anderen Loaseen erhalten die Brennhaare ihre Sprödigkeit nur zum sehr geringen Teile durch Kieselsäure, sondern hauptsächlich durch Verkalkung und bei Jatropha durch Verholzung.

Netolitzki (I und II) hat in neuester Zeit die weite Verbreitung der Verkieselung in Blättern bei vielen Rubiaceen, insbesondere bei Rubia, Galium, Sherardia, Crucianella und Asperula und bei vielen anderen Dicotylen dargetan[1]).

Bei vielen Blättern erscheint die Verkieselung der Membran auf die Epidermis beschränkt, bei anderen auf die Epidermis und die Gefäßbündel und bei vielen erstreckt sie sich auf alle drei Gewebesysteme, also auch auf das Mesophyll.

Die Cystolithen, die der Hauptsache nach mit kohlensaurem Kalk inkustriert sind, lagern nicht selten besonders in ihren Stielen Kieselsäure ein. Die Verkieselung kann sich aber auch auf den Kopf der Cystolithen erstrecken, ja die von Ficus Sycomorus sollen nach Kohl (I, 237) ganz aus Kieselsäure bestehen.

Heinricher (I) beobachtete bei Campanula persicifolia und anderen Arten eigenartige Zellhautpfropfen, die etwa in der Mitte der Außenwände der Oberhautzellen auftreten. Sie springen entweder in das Lumen der Zellen vor oder sie erscheinen durch Differenzierung ihrer Substanz scharf gekennzeichnet und nehmen sich wie in die Zellwand eingesetzte Stöpsel aus. Nach außen entsprechen sie kleinen Höckern und sind stark verkieselt.

Hierher gehören auch die von K. Linsbauer (I, 328) in der Epidermis der meisten Bromeliaceenblätter entdeckten kleinen runden Kieselkörper, die zum großen Teil in der Wand der Oberhautzellen eingesenkt sind.

Im Zellinnern des Rindenparenchyms der Chrysobalanee Moquilea (el Cauto-Rinde) fand Crüger (I) Ablagerungen amorpher Kieselsäure, die geschichtet, doppeltbrechend und opalisierend sind und ähnlich wie der kohlensaure Kalk im Kern- und Wundholz (Molisch VIII)

1) Die eigenartigen blasenförmigen Haare an den Blättern von Rochea falcata sollen nach v. Kerner (I) — und derselben Ansicht ist auch Kohl (I, 235) — beim Veraschen ausgezeichnete Kieselskelette zurücklassen. v. Kerner vergleicht sie geradezu mit Glasgefäßen. Dies ist nach meinen Beobachtungen ein Irrtum. Daß man beim Glühen der Rochea-Epidermis ein schönes Aschenskelett von den blasenförmigen Zellen erhält, ist richtig, nur besteht es nicht aus Kieselsäure, sondern aus kohlensaurem Kalk. Auf Zusatz von Salzsäure verschwindet es momentan unter Aufbrausen.

die Zellumina bis in die Tüpfelkanäle hinein ausfüllen und so Abgüsse der Zellumina darstellen.

Auch v. Mohl (I, 230) fand Kieselsäure in Form von Körnern oder einer die ganze Zelle erfüllenden Masse in den Blättern verschiedener Pflanzen aus den Familien der Chrysobalaneen, Dilleniaceen und Magnoliaceen.

Stegmata oder Deckzellen. Ziemlich weite Verbreitung genießen die mit Kieselkörpern erfüllten, von Mettenius als Deckzellen oder Stegmata beschriebenen Gewebeelemente. Sie kommen vor bei Trichomanes-Arten, vielen Palmen, Orchideen und Scitamineen exklusive Zingiberaceen und begleiten hier in großer Zahl die Baststränge. Es sind kleine parenchymatische Zellen, die bei den Palmen die Form einer

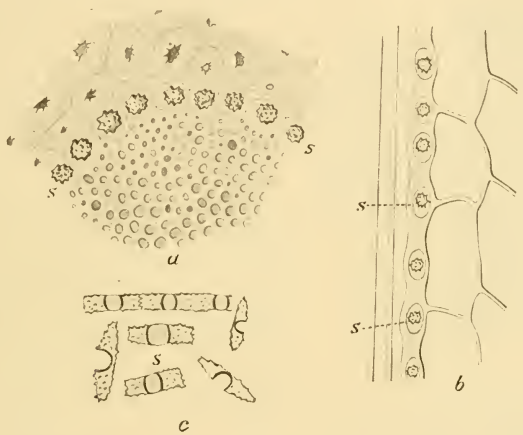


Fig. 30.

Stegmata oder Deckzellen *s*.

a Stück eines Querschliffs vom Endokarp der Cocos nucifera. *s* Stegmata mit Kieselkörpern, im Bogen die Bastzellen einhüllend. Vergr. 300.

b Stück eines Längsschnittes durch den Blattstiel von Phoenix sp. *s* Stegmata mit runden Kieselkörpern. Vergr. 400.

c Isolierte Kieselkörper aus den Stegmata von Calathea Seemannii. Vergr. 300.

Kugel oder bikonvexen Linse haben. Die Wand ist, soweit sie der Bastfaser zugekehrt ist, dick, im übrigen aber dünn. Die Stegmata der Palmen enthalten kegel-, hütchen- oder scheibenartige Kieselkörper, die meist eine warzige Oberfläche aufweisen. Eine sehr merkwürdige Form von Stegmata-Kieselkörpern fand Molisch (XIII) bei der Marantacee Calathea Seemannii. Die Deckzellen liegen auch hier den Bastzellen an und erscheinen bei bestimmter Lage auf Längsschnitten in Form eines niedrigen Trapezes, das in der Mitte seiner Basis einen halbkreisförmigen Ausschnitt besitzt. Dieser entspricht, räumlich genommen, einer halbkugelförmigen Aushöhlung. Die Deckzellen sind mit Kieselsäure vollständig ausgefüllt (Fig. 30). Bei den Pandaneen führen die Deckzellen anstatt der Kieselsäure oxalsauren Kalk.

Podostemonaceae. Bei dieser merkwürdigen, dem raschfließenden Wasser angepaßten Phanerogamenfamilie hat Cario (I) im Gewebe von Tristicha hypnoides Spreng. Kieselkörper nachgewiesen. Sie finden sich sowohl in den Epidermiszellen der Oberseite als auch in den subepidermalen Zellen des „Thallus" vor. Auf Längsschnitten schließen sie in Längsreihen aneinander und bilden bolzenförmige kompakte Massen, die häufig genaue Abgüsse des Zellumens darstellen. Die Kieselkörper der Blätter unterscheiden sich nur in der Form von denen des „Thallus" und bilden vielzackige Sterne, halbmondförmige, dreieckige oder langgestreckte Massen. Warming (I) erblickt in den Kieselkörpern eine Einrichtung, die es den Pflanzen ermöglicht, der reißenden und korrodierenden Wirkung des Wassers zu widerstehen.

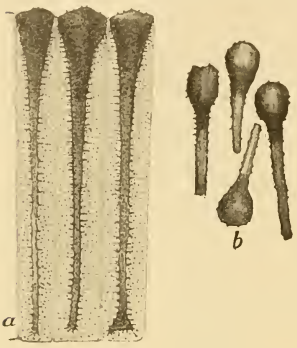


Fig 31.
Kieselzellen aus dem Endokarp der Steinnuß (Phytelephas). Vergr. 105.
a 3 palisadenförmige Kieselzellen; ihr trichterförmiges Lumen samt den Porenkanälen mit Kieselsäure ausgefüllt. Nach einem Präparat in Kanadabalsam. *b* 4 solche Zellen verascht, die Kieselmassen bleiben, etwas zusammengesintert, zurück.

Kohl (9, 257) hat eine Reihe anderer Podostomonaceen untersucht und die Kieselkörper innerhalb dieser Familie weit verbreitet vorgefunden: bei Podostemon-Arten, Terniola longipes, Mniopsis-Arten und Mourera aspera.

Phytelephas. Ein höchst auffallendes Vorkommen von Kieselsäure im Zellumen hat Molisch (XII) im Endokarp von Phytelephas microcarpa und Ph. macrocarpa beobachtet. Die kaum 1 mm dicke Steinschale ist außerordendlich hart und spröde. Sie läßt sich schwer schneiden, aber leicht brechen. Auf der Bruchfläche fällt eine schwarze, im auffallenden Lichte spiegelnde und zur Oberfläche der Schale senkrecht gestreifte Schichte auf, die die Hauptmasse des Endokarps ausmacht. Sie besteht ganz aus palisadenartigen, schwarzbraunen Zellen von etwa ½ mm Länge, deren Lumen mit Kieselsäure gewöhnlich total erfüllt ist (Fig. 31). Das Lumen öffnet sich nach oben breit trichterförmig, nach unten wird es schmal, ganz unten zumeist wieder etwas breiter. Vom Lumen strahlen nach allen Richtungen gegen die Oberfläche der Zellwand zu zahlreiche feine Porenkanäle aus, so daß diese ganz porös erscheint. Das ganze Lumen der Palisadenzellen ist ausgefüllt mit einer farblosen Masse von den Eigenschaften der Kieselsäure. Die Asche der Schale knirscht beim Zerreiben wie Sand und besteht der Hauptmasse nach aus den zurückbleibenden Kieselkörpern, die den Hohlraum der Prismenzellen auf das genaueste wiedergeben, ja sogar durch zahlreiche, zapfenartige Fortsätze die Porenkanäle andeuten.

Angiopteris. Außerdem möchte ich auf ein bisher übersehenes Auftreten von Kieselkörpern bei den Blättern von Angiopteris evecta Hoffm. aufmerksam machen. In der unteren Epidermis der Blattfiedern

dieses Farnkrautes finden sich zahlreiche Zellen, die fast vollständig mit je einer runden Kieselmasse erfüllt sind (Fig. 32). Sie haben eine rauhe Oberfläche, erscheinen bei scharfer Einstellung außerordentlich fein porös und enthalten häufig einen kugelrunden, scharf umgrenzten Kieselkern, der sich wie ein Zellkern im Plasma ausnimmt.

Callisia, Loranthus usw. Schließlich sei noch auf die von Möbius (I) beobachteten Kieselkörper hingewiesen, die in den Laubblättern von Callisia repens auftreten und auf die von Molisch (XXII) entdeckten Kieselkörper in der Oberhaut des Laubblattes und des Stengels der Campelia Zanonia. Die Verteilung und das Auftreten dieser Körper entsprechen denen der eben erwähnten, von Möbius bei der Commelinee Callisia beobachteten und geben zu erkennen, daß die Verwandtschaft der Pflanze nicht bloß durch einen bestimmten Chemismus, sondern auch durch eine ganz eigenartige Lokalisation zum Ausdruck kommen kann. Ferner sei aufmerksam gemacht auf die Kieselzellen, die kugelige Körper in der Nähe des Blattrandes und der Blattspitze von Loranthus europaeus bilden (Kolpin Rave I), auf die Zellgruppen mit verkieselten Membranen bei Aristolochia-Arten, die Zellausfüllungen mit Kieselsäure bei den verwandten Gattungen Thottea und Apama (Solereder I, 771) und auf die allgemeine Verbreitung von verschieden gestalteten Kieselkörpern in den Kieselkurzzellen der Epidermis der Gramineen, die Grob (I) nachgewiesen hat und die bei Arundo donax eine auffallende Größe erreichen (Molisch XXII).

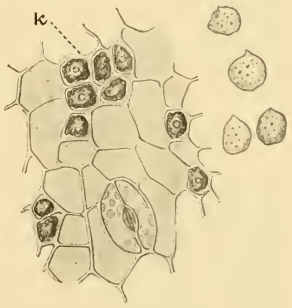


Fig. 32.
Epidermis der Blattunterseite von Angiopteris evecta mit Kieselkörpern *k*. Vergr. 300. Rechts 4 isolierte Kieselkörper. Vergr. 400.

In welcher Form das Silicium in der Pflanze auftritt, ob in organischer oder in anorganischer Bindung, ist derzeit mit Sicherheit nicht bekannt. Ladenburg (I) und Lange (I) haben sich mit dieser Frage beschäftigt. Jener meint, daß das Silicium in Form organischer Verbindungen in der Pflanze vorkommt, ohne aber experimentelle Beweise für diese Ansicht zu bringen. Dieser legte sich unter anderem die Frage vor, welche bestimmte Siliciumverbindung sich im Safte vorfindet und kommt auf Grund von Versuchen mit dem Safte von Equisetum hiemale zu dem Ergebnis, daß das Silicium in keiner anderen Form als der einer sehr verdünnten Kieselsäurehydratlösung vorhanden sein könne, als welche es auch in die Pflanze, nach Lange, eintritt.

Jüngst wurde von O. Richter (II, 1337) in einwandfreier Weise der Beweis geliefert, daß gewisse Diatomeen sowohl Silicium als auch Natrium zu ihrer vollständigen Entwicklung benötigen, und er neigt zur Ansicht, daß beide Elemente an dem Aufbau der Kieselschale der Meeresdiatomeen beteiligt sind. Ein direkter Beweis für diese Annahme fehlt gegenwärtig noch, wie denn überhaupt die ganze Frage nach der Natur der Siliciumverbindungen in der Pflanze einer erneuten Untersuchung bedarf.

5. Chlor.

Nachweis.

1. Mit Thallosulfat. Eine wässerige Lösung (2—4%) dieses Salzes bewirkt mit Chloriden sofort oder beim Verdunsten einen kristallinischen Niederschlag von löslichem Thallochlorid TlCl. Die tesseralen Kristalle erscheinen in Würfeln, Oktaedern, auch kombiniert mit den Flächen des Rhombendodekaeders und in kreuzförmigen Rosetten (Fig. 33). Sie sind im auffallenden Lichte weiß, im durchfallenden fast ganz schwarz. Ist man im Zweifel, ob man wirklich Thallium-Kristalle vor sich hat, prüfe man nach Borodins Verfahren in einer gesättigten Lösung von Thalliumchlorid, worin sich natürlich Kristalle dieser Verbindung nicht auflösen. Bei der Ausführung der Reaktion bedecke man den Tropfen nicht mit einem Deckglas. Schnitte, die relativ reich an Chloriden sind, wie die von Strandpflanzen oder Blattstiele von Primula obconica geben die Kristalle sofort, chloridarme Schnitte erst beim Verdunsten des Reagens.

2. Mit Thalloacetat. Jung (I) gibt diesem Salze den Vorzug vor dem Thallosulfat und verwendet eine Lösung von Thalloacetat 0,5 g, Glycerin 2 g, dest. Wasser 7,5 g.

3. Mit salpetersaurem Silber erhält man bei Gegenwart von Chlorionen einen weißen, amorphen Niederschlag, mit dem mikrochemisch nicht viel anzufangen ist. Er kann aber leicht kristallisiert erhalten werden, wenn man nicht zu viel Ammoniak zusetzt und dann verdunsten läßt (Haushofer I, 117). Dabei entstehen kleine tesserale, stark lichtbrechende Kristalle von AgCl in Form des Hexaeders, Oktaeders oder der Kombinationen beider, seltener mit den Flächen des Rhombendodekaeders (s. Fig. 34).

Fig. 33.
Kristalle von Thallochlorid. Vergr. 400.

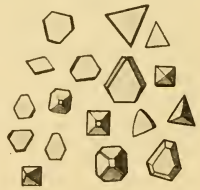


Fig. 34.
Kristalle von Silberchlorid. Vergr. 400.

Schnitte vieler Pflanzen, namentlich der halophilen Strandpflanzen und verwandter dieser geben meist schon einen makroskopisch sichtbaren amorphen Niederschlag. Nach Zusatz von Ammoniak erscheinen im unbedeckten Tropfen alsbald die Kristalle von Chlorsilber. Sie färben sich unter dem Einfluß des Lichtes allmählich, unter dem der Pflanzensäfte oft sehr rasch violett. Sie lösen sich leicht in Ammoniak, Cyankalium, unterschwefligsaurem Natrium und einer konzentrierten Lösung von salpetersaurem Quecksilberoxyd.

Jung (I) empfiehlt eine 1proz. Lösung von Silbernitrat in einer 10proz. Ammoniak-Lösung. Bei sehr geringem Chlorgehalt eine solche von $^1/_2$proz. Silbernitratlösung in 10% Ammoniak, um größere Kristalle zu erzielen. Man legt den Schnitt in den Reagenstropfen und läßt

das NH_3 an der Luft möglichst ruhig verdampfen. Nach 1—2 Minuten bilden sich mitunter recht große AgCl-Kristalle an der Oberfläche des Tropfens: Würfel, Oktaeder, kreuzförmige oder ordensternartige Drusen. Ungemein charakteristisch für sie ist, daß sie sich alsbald blau, violett bis schwarz färben.

Die Kristalle lassen sich nach Brunswik (II) beim Umkristallisieren in Ammoniak mit Methylenblau, Eosin, wässerigem Kongorot und Bismarckbraun während ihrer Entstehung echt färben. Setzt man dem Silbernitratreagens von Jung gleich etwas Methylenblau hinzu, so erhält man die blaugefärbten Kristalle auch auf dem Pflanzenschnitt (Begonia, Primula). Gerbstoffe stören leider.

4. Mit salpetersaurem Silber in Gegenwart von Salpetersäure und nachträglicher Exposition im Lichte. Das Silbernitrat wurde in der tierischen Histologie seit langem als morphologisches Reagens verwendet, weil nach Imprägnierung der Gewebe mit diesem Salze und nach der Einwirkung des Lichtes häufig eine Reduktion des Silbersalzes eintritt und durch das auftretende metallische Silber die Zellgrenzen und andere histologische Details sehr deutlich werden. Als chemisches Reagens wird das Silbernitrat in Verbindung mit Salpetersäure und Licht zum Nachweis von Cloriden erst seit kurzem gebraucht.

Macallum (V, I, 620) bezeichnet das Silbernitrat in Gegenwart von Salpetersäure als ein außerordentlich zuverlässiges Reagens für Chloride, indem es Silberchlorid bildet, das unter der Einwirkung von Licht zu Subchlorid, Ag_2Cl, wird. Mit Hilfe dieses Reagens, das aus $^1/_{10}$ normaler Silbernitratlösung und 1,5% Salpetersäure bestand, konnte der genannte Forscher zeigen, daß die Kerne der tierischen und pflanzlichen Zellen in ihrem normalen Zustand frei von Chloriden sind, während das Cytoplasma gewöhnlich Chloride enthält. Die Chromatophoren von Tulipa, Spirogyra und Zygnema gaben keine Chloridreaktion.

5. Direkter Nachweis des Chlorkalium und Chlornatrium. Schimper (I, 213) meint ClK und ClNa in der Pflanzenasche auch direkt nachweisen zu können. Gibt man auf Pflanzenasche ein Tröpfchen Wasser und läßt eintrocknen, so entstehen beim Verdunsten häufig farblose Würfel, deren Natur durch Platinchlorid, Thalliumsulfat und Uranylacetat nach Schimper aufgedeckt werden kann. In Wirklichkeit ist die Sache aber nicht so einfach, wie sie auf den ersten Blick erscheint, da die Erkennungsform des Natriums, Kaliums und des Chlors nicht an Ort und Stelle des zu prüfenden Kristalls, sondern oft recht weit entfernt davon entsteht.

Vorkommen.

Das Chlor ist im Pflanzenreiche weit, vielleicht in Spuren allgemein verbreitet. Die am Meeresstrande wachsenden Phanerogamen speichern es in großen Mengen und auch die damit verwandten Landpflanzen zeigen eine große Vorliebe für Chlor. Schimper (I, 225) beobachtete, daß Holzgewächse, die gewöhnlich am Strande leben und hier Chloride speichern, auch auf gewöhnlichem Boden sehr chlorbegierig bleiben. Dieselbe Eigenschaft fand er auch häufig bei Holzgewächsen, die unter natürlichen Bedingungen nicht als Halophyten wachsen, aber mit diesen verwandt sind. So bei Hibiscus Lampas, Abutilon atropurpureum, Clematis tubulata, Termi-

nalia bicolor, Sapium-Arten und vielen anderen Euphorbiaceen. Das Chlor ist nach SCHIMPER bei den Strandpflanzen meist in Form von Chlornatrium, an weniger chlorreichen Orten in Form von Chlorkalium, und zwar vorwiegend in den Blättern vorhanden.

Der Gehalt des Milchsaftes an Chloriden wurde von MOLISCH (VI, 51) geprüft und stellte sich als recht verschieden heraus. Viel Chloride enthielt der Milchsaft von Brosimum microcarpum Schott, Centropogon Lucianii, Euphorbia-Arten, Homalanthus populneus Pax, Hoja rotundifolia, Jatropha podagrica Hook., Nerium Oleander L., Pedilanthus tithymaloides Poit., wenig enthielt er bei Alocasia violacea hort., Campanula medium L., Ipomoea purpurea, Papaver orientale, Sonchus sp. und keine nachweisbaren Mengen bei Chelidonium majus, Ficus elastica hort. und Morus sp.

Manche Halophyten, z. B. Arten von Statice, Tamarix und Frankenia scheiden an der Oberfläche ihrer Blätter Salzkrusten aus, die nach SCHTSCHERBACK (I) hauptsächlich aus Chloriden und Sulfaten von K, Na und Mg bestehen.

Durch die jüngst erschienene Arbeit von JUNG (I) sind wir über die Verbreitung des Chlors recht gut unterrichtet. Er hat die verschiedensten Pflanzen von den niedrigsten Gewächsen bis zu den höchsten, im ganzen 604 Arten aus 389 Gattungen und 137 Familien, untersucht.

Es gibt chlorliebende und chlorfeindliche Familien, doch können innerhalb einer Familie diesbezüglich Verschiedenheiten obwalten. Chlorhold sind: die Equisetaceen, Cannabaceen, Ulmaceen, Urticaceen, Euphorbiaceen, Polygonaceen, Chenopodiaceen, Amarantaceen, Cruciferen, Tamaricaceen, Malvaceen, Umbelliferen, Primulaceen, Compositen, Liliaceen und Iridaceen.

Chlorfeindlich sind dagegen: die Cyanophyceen und Chlorophyceen des süßen Wassers, die Flechten, Moose, Bärlappe, ferner Nadelhölzer, Betulaceen, Salicaceen, Rosaceen, Ericaceen und Orchideen.

Was die Verteilung der Chloride innerhalb der Pflanze anbelangt, so läßt sich im Stengel immer eine Zunahme des Chlorgehaltes von der Wurzel zur Spitze feststellen. Die Hauptmenge befindet sich in den parenchymatischen, zellsaftreichen Geweben, und zwar gelöst im Zellsaft. Im Querschnitt liegt die Hauptmenge im Rinden- und Markparenchym, wenig oder gar kein Chlor in der Oberhaut und dem Stranggewebe.

Die bisher vorliegenden Versuche über die Ernährung höherer und niederer Pflanzen haben im allgemeinen gelehrt, daß Chlor kein wesentliches Nährelement darstellt, daß es aber den Stoffwechsel mitunter günstig beeinflußt. In den Meerespflanzen spielt das Kochsalz zumeist (vgl. die Ausnahmen auf p. 65) die Rolle eines osmotischen Faktors und wahrscheinlich, wenigstens bei den Bakterien, nicht die einer Nährsubstanz, denn bei Ernährungsversuchen mit Leuchtbakterien konnte das ClNa auch durch Nichtchloride, so durch Kaliumnitrat, Jodkalium und Kaliumsulfat ersetzt werden (MOLISCH XV, 89—90).

6. Jod.

Nachweis.

1. Mit Stärkekleister. Bekanntlich färben sich Stärkekörner oder Stärkekleister mit Jod blau oder blauviolett. Sowie Spuren von Stärke sich mit Jod auffinden lassen, so auch umgekehrt Spuren von Jod durch Stärke. Das in vielen Meeresalgen vorkommende Jod kann in folgender Weise leicht nachgewiesen werden. Die sogenannten Quellstifte, die in der Apotheke erhältlich sind und die die getrockneten

‚Stengel" der Braunalge Laminaria darstellen, geben ein ausgezeichnetes Material für den Nachweis des Jod ab.

α) Versuch. Einige Schnitte durch den Stengel von Laminaria ‚werden in einer Eprouvette mit etwa 2 ccm wässerigem 1% Kartoffelstärkekleister, mit 1—3 Tropfen einer 20proz. Kaliumnitritlösung und ebensoviel Tropfen einer verdünnten (5%) Salzsäure versetzt. Der Kleister färbt sich durch das in Freiheit gesetzte Jod sofort blau. Derselbe Versuch gelingt auch mit einem Schnitt unterm Mikroskop.

β) Versuch. Tunmann (I) hat zuerst Jod mikrochemisch in folgender Weise nachgewiesen: Man bringt einen Laminariaschnitt auf den Objektträger in einen Tropfen Wasser, in den man etwas Weizenstärkekörner eingetragen hat, bedeckt mit dem Deckglas und läßt vom Rande 1—2 Tropfen konzentrierte Salpetersäure einwirken. Statt Salpetersäure kann auch Eisenchlorid verwendet werden, mit dem man das Präparat betupft. Durch beide Reagentien wird Jod freigemacht und die Stärke blau gefärbt. Nach dieser Methode konnte Tunmann Jod in 1—2 mg der Laminaria (Droge) nachweisen. Das meiste Jod findet sich bei Laminaria im Mark und in der Rindenschicht, während die sogenannte „Mittelschicht" jodärmer zu sein pflegt.

γ) Versuch. Ausgezeichnete Dienste leistet wie ich gefunden habe, auch folgendes Verfahren. In die Glaskammer (p. 65) werden ein bis mehrere Schnitte von Laminaria gegeben und mit 1—3 Tropfen konzentrierter Salzsäure versehen. Dann wird die Glaskammer sofort mit einem Deckgläschen bedeckt, an dessen Unterseite in der Mitte ein kleines Tröpfchen Stärkekleister oder ein Wassertröpfchen mit Kartoffelstärkekörnern hängt. Nach einigen Minuten färbt sich der Kleister blau und nach längerer Zeit tiefblau. Schon mit einem nur wenige Milligramm wiegenden Schnitt läßt sich das Jod nachweisen; auch mit konzentrierter Schwefelsäure gelingt das Experiment, allein die Blaufärbung hält bei Verwendung von Schwefelsäure nicht lange an.

Alle diese Versuche gelingen auch mit frischen Laminariastengeln.

Der Nachweis von Jod gelingt auch leicht mit der Asche von Laminaria. Ein Partikelchen davon wird mit einem Tropfen Stärkekleister versehen, ein Körnchen Kaliumnitrit und 1 Tropfen 10proz. Schwefelsäure hinzugefügt. Der Kleister färbt sich sofort blau.

2. Nachweis als Silberjodid AgJ bzw. als Quecksilberjodid HgJ_2. Wenn man Jod als Jodamylum nachweisen will, muß das Jod als Ion vorhanden sein. Das Jod kommt aber auch in Form komplexer, organischer Verbindungen vor, in der Jod nicht direkt nachgewiesen werden kann. Soll dies möglich werden, so muß das Jod aus dem Atomkomplex in das Ion übergeführt werden. Dies glaubt Justus (I) durch Chlor in folgender Weise ausführen zu können: „Den Schnitten des im Alkohol fixierten und in Celloidin eingebetteten Organes wird in einer Schale Wassers ihr Alkohol vollständig entzogen. Hierauf überführe man selbe in ein kleines, mit gut passendem Glasstöpsel versehenes, weithalsiges Gefäß, in welches man etwa zwei Finger hoch destilliertes Wasser gibt. Sind die Schnitte übertragen, so gieße man das Wasser von demselben ab und gebe statt dessen etwa ebensoviel frisch bereitetes, grün gefärbtes Chlorwasser in das Gefäß. Die Schnitte bleiben 1—2 Minuten, doch allenfalls bis zu ihrer vollständigen Entfärbung der Einwirkung des Chlorwassers in fest verschlossenem Glase ausgesetzt. Hernach werden sie mittels Glas- oder Platinnadel in eine dilnierte Lösung von $AgNO_3$

überführt. Hier werden die vom Chlor gebleichten Schnitte in kurzer Zeit blaßgelb, alsbald gelbgrün. Im Verlaufe von 2—3 Stunden erreicht die Farbe (vor Lichteinwirkung muß geschützt werden) ihre volle Intensität. In der Silberlösung selbst entsteht natürlich auch ein wolkiger, weißer Niederschlag von AgCl.

Nach 2—3 Stunden werden die Schnitte in eine gesättigte, warme Lösung von Kochsalz gegeben. Da in derselben das AgCl löslich ist, hellen sie alsbald auf und zeigen eine reine, schwach- bis kanariengelbe Farbe. Dies ist die Farbe des AgJ in sehr dünner Schicht. Werden die Schnitte aus der Kochsalzlösung nach vorgängigem Auswaschen mit destilliertem Wasser in konzentrierte (4—5 %) $HgCl_2$-Lösung gebracht, so wandelt sich die Farbe in einigen Augenblicken ins Blaßgelbrote, Rosa und endlich in Zinnober, da das in ihnen enthaltene AgJ in gelbes, alsbald rot werdendes HgJ_2 übergeht.“ Vorher hat man sich zu überzeugen, daß alle verwendeten Reagentien jodfrei sind. Justus untersuchte Schnitte von fast sämtlichen Organen des Menschen und des Rindes, ferner zahlreiche niedere Organismen und Pflanzen und konnte überall in den Kernen Jod als einen normalen Bestandteil erkennen. Nach Justus ist jeder Zellkern jodhaltig.

Tunmann hat das Verfahren von Justus auf Laminaria angewendet und glaubt mit großer Wahrscheinlichkeit festgestellt zu haben, daß das Jod hier im Zellinhalt vorkommt.

Bei der Lektüre der Arbeit von Justus stiegen mir sofort Bedenken gegen die Resultate auf, denn sie erschienen mir nicht gut vereinbar mit der Tatsache, daß Pflanzen, Algen, Pilze, Phanerogamen, die in außerordentlich sorgfältig bereiteten jodfreien Nährlösungen gezogen wurden, üppig gediehen. Woher hätten sie das Jod hernehmen sollen, wenn das Jod ein normaler Bestandteil des Zellkerns sein soll? Wie berechtigt diese Bedenken waren, lehrt die Arbeit Babiys (I), die auf meine Veranlassung die Nachprüfung der Justusschen Abhandlung mit Rücksicht auf die Pflanze übernahm und zu vollständig negativen Ergebnissen gelangte. In keinem einzigen Falle konnte Jod im Zellkern der Pflanzen nachgewiesen werden.

Andere Reaktionen, wie die von Behrens (I) angegebene Fällung des Jod als Thallojodid, Palladojodid oder Kaliumjodoplatinat können sich nicht im entferntesten mit der Jodamylumprobe messen und sind daher für den Phytochemiker nicht zu empfehlen.

Vorkommen.

Nach Bourcet (I) und Gautier (I) gehört Jod zu den verbreitetsten Grundstoffen in der Natur. Es findet sich im Staub, im Regen, Schnee, dem Meer- und Süßwasser, in Pflanzen und Tieren. Spuren von Jod konnten auch in Süßwasseralgen und in Flechten, von Bourcet auch in manchen höheren Landpflanzen aufgefunden werden. Hauptsächlich kommt aber Jod neben Brom in Meeresalgen vor und aus diesen wird es ja auch im großen gewonnen. Insbesondere aus den Braunalgen: Laminaria, Fucus, Ecklonia, Sargassum und Arthrothamnus und anderen. Gautier (I) fand in Fucus und Laminaria 12 mg Jod auf 100 g frische Pflanzen und 60 mg auf 100 g trockene Pflanzen. Er fand auch in manchen Süßwasseralgen Jod vor, aber nur in sehr geringen Mengen (0,25 mg auf 100 g Trockensubstanz).

Ich habe gelegentlich eines 4wöchentlichen Aufenthaltes in der biologischen Anstalt auf Helgoland eine große Reihe von Meeresalgen mikrochemisch auf Jod nach der Reaktion I untersucht und gebe hier die Resultate in einer Tabelle.

Phaeophyceen.

Name der Alge	Ausfall der Reaktion	Reaktion trat ein
Fucus serratus	+	im Stamm deutlich, aber nicht im Laub
„ vesiculosus	—	
Ascophyllum nodosum . . .	+!	„ „ „ „ „ „ „
Cladostephus verticillatus .	+!	
„ spongiosus . .	+	
Desmarestia aculeata . . .	+!	„ „ „ und im Laub
Laminaria digitata	+!	sehr deutlich in den Rhizoiden, Stamm und Laub
„ saccharina . . .	+!	sehr deutlich in den Rhizoiden, Stamm und Laub
Elachista fucicola	0	
Sphacelaria radicans . . .	0	
Dictyota dichotoma	0	
Halydris siliquosa	+	im Stamme
Rhodophyceen.		
Furcellaria sp.	0	
Delesseria alata	0	
Phyllophora rubens (?) . .	0	
Rhodomela subfusea	0	
Plocamium sp.	0	
Polyides rotundus	0	
Corallina rubens	0	
„ officinalis	0	
Spermothamnion Fourneri .	0	
Porphyra laciniata	0	
Plumaria elegans	+!	
Ceramium rubrum	0	
Callithamnion corymbosum .	0	
Chondrus crispus	0	
Hildenbrandtia rosea . . .	0	
Bangia fuscopurpurea . . .	0	
Chondria dasyphylla . . .	0	
Gymnogongrus plicatus . .	0	

! bedeutet intensive Reaktion.

Wie aus der Tabelle hervorgeht, kann man bei Braunalgen sehr häufig Jod nachweisen, hingegen selten bei Rotalgen. Unter 13 Phaeophyceen war es bei 8 nachweisbar; am intensivsten fiel die Reaktion bei Laminaria und Cladostephus aus. Unter den geprüften Rhodophyceen gab nur Plumaria elegans die Reaktion, und zwar eine sehr intensive. Interessant ist, daß nur bestimmte Arten Jod speichern. Wenn auf demselben Stein Cladostephus neben Polysiphonia atrorubens und Corallina officinalis wachsen, so gibt nur die erste die Jodprobe[1]).

1) Kolkwitz (I), der sich bemüht hat, Stärke bei Rotalgen mit Jodchloralhydrat nachzuweisen, erwähnt die Beobachtung, daß bei manchen Rotalgen schon der bloße Chloralhydratzusatz ohne Jod genüge, um eine Färbung der Stärke hervorzurufen, und er glaubt, daß in diesem Falle das Jod von der Pflanze selbst geliefert wird. Wird die Alge Spermothamnion Tourneri in Wasser erhitzt, so „verschwindet" das Phycoerythrin aus den Zellen. „Setzt man jetzt Chloralhydratlösung ohne Jod hinzu, so färbt sich das Objekt schön purpurrot. Wahrscheinlich macht das Chloralhydrat aus irgendeiner Verbindung Jod frei und dieses veranlaßt dann die Färbung" (p. 85). Diese Erklärung beruht meiner Meinung nach auf einem Irrtum. Beim Eintauchen in heißes Wasser verschwindet das Phycoerythrin

Ein höchst auffallendes Vorkommen von Jod beschreibt Golenkin (I) bei der im Golf von Neapel auftretenden Floridee Bonnemaisonia asparagoides. Wird die Alge auf ein mit Stärkekleister geleimtes Papier gelegt, so färbt es sich blauviolett. Diese Beobachtung wurde auch von Robertson (I) gemacht. Unterm Mikroskop konnte man sehen, daß die Färbung nicht vom gesamten Thallus, sondern nur von gewissen Punkten ausging, und zwar von besonderen Zellen, die vorzugsweise die jüngeren Teile und die Cystokarpien bedecken. Diese Zellen führen je eine Vakuole mit sehr stark lichtbrechendem Inhalt und gerade diese Vakuolen enthalten nach Golenkin das Jod oder eine stärkefärbende Jodverbindung. Beim Übertragen der Alge in dest. Wasser platzen die Zellen, die Vakuolen werden frei und nur in ihrer Umgebung färbt sich die Stärke blau. Die chemische Natur des Vakuoleninhaltes konnte nicht aufgedeckt werden und auch aus der Tatsache, daß Cyanin den Vakuoleninhalt braun färbt, läßt sich kein bestimmter Schluß ziehen. So interessant Golenkins Beobachtungen an und für sich sind, so fordern sie doch zu neuen Untersuchungen der Alge heraus, denn von vornherein ist es doch höchst unwahrscheinlich, daß freies Jod[1]), welches ein heftiges Zellgift ist, in der lebenden Zelle vorkommen sollte. Wenn wirklich Jod die Ursache der Kleisterfärbung sein sollte, dürfte es sich höchstwahrscheinlich um eine labile, leicht Jod abspaltende Verbindung handeln.

Dieser Ansicht hat sich jüngst Kylin (I, 345) angeschlossen, der die Beobachtungen Golenkins und Robertsons dahin ergänzte, daß er bei der genannten Alge besondere stark lichtbrechende Blasenzellen vorfand, die den Ausgangspunkt der Blaufärbung bildeten. Auch bei Spermothamnium roseolum kommen stark lichtbrechende Zellen vor, die irgendeine Jodverbindung enthalten (Kylin I, 346, II).

Das Jod kommt bei den Meeresalgen in anorganischer und organischer Bindung vor. Nach Yohuda und Eto (I) ist der größte Teil des Algen-Jod organisch, und zwar gewöhnlich an Eiweiß gebunden, aus dem es durch Kochen mit verdünnter Formaldehydlösung in Freiheit gesetzt werden kann.

7. Salpetersäure und salpetrige Säure.

Nachweis.

1. Mit Diphenylamin. Molisch (XVI, XVII) hat dieses Reagens zum Nachweis von Nitraten und Nitriten zuerst in die botanische

nicht aus den Zellen, sondern es wird nur verfärbt und wird durch das sauer reagierende Chloralhydrat in seiner Färbung restituiert. Das, was Kolkwitz bei seinem oben angeführten Experimente als Jodstärke angesehen hat, war in seiner Färbung wieder restituiertes Phycoerythrin. Kolkwitz sagt: „Während der Rotfärbung geht von dem vermuteten freien Jod nichts ins Chloralhydrat über, denn gleichzeitig beigelegte Kartoffelstärke blieb farblos.“ Würde Jod durch Chloralhydrat freigemacht werden, so wäre es doch ganz unverständlich, daß das Jod nicht aus den Zellen austreten und die Kartoffelstärke nicht blau färben sollte. Die Erklärung von Kolkwitz kann auch deshalb nicht richtig sein, weil ich bei Spermothamnion weder im Gewebe noch in der Asche Jod nachweisen konnte. Außerdem gelingt das Kolkwitzsche Experiment auch mit Florideen, die gar keine Stärke besitzen; die erwähnte Rotfärbung rührt also in diesem Falle nicht von freigemachtem, aus der Pflanze stammenden Jod, sondern vom Phycoerythrin her, das durch das saure Chloralhydrat in seiner Färbung wieder hergestellt wird. Die Restituierung des Farbstoffes gelingt nicht bloß mit Chloralhydrat, sondern auch mit vielen anderen sauer reagierenden Substanzen und Säuren: Salzsäure, Schwefelsäure, Essigsäure und anderen.

1) Freies Jod soll auch bei einem Insekt auftreten. Loman (I) fand, daß der javanische Käfer Cerapterus quatuor-maculatus Westud. aus der Familie der Pausiden Flüssigkeit ausspritzt, die angeblich freies Jod enthalten soll.

Mikrochemie eingeführt. Es hat sich sehr bewährt, denn das meiste, was über die Beziehungen der anorganischen Stickstoffsalze zur Pflanze in den letzten 30 Jahren aufgefunden wurde, ist auf die mikrochemische Anwendung dieses Reagens zurückzuführen. Die besten Dienste leisten Lösungen von $^1/_{100}$ bis $^1/_{10}$ g Diphenylamin in 10 ccm reiner Schwefelsäure. Bringt man einen Tropfen dieses Reagens auf einen ein salpetersaures oder salpetrigsaures Salz enthaltenden Schnitt, so tritt eine tiefblaue Färbung auf, die je nach dem Nitrat- oder Nitritgehalt längere oder kürzere Zeit andauert, schließlich verschwindet oder ins Braungelbe übergeht. — Bei der Prüfung frischer Schnitte ist es nicht empfehlenswert, mit konzentrierten Lösungen zu arbeiten, da in diesem Falle das Diphenylamin beim Zusammentreffen mit Wasser (Zellsaft) herausfällt, wodurch die Reaktion unterbleibt oder nur sehr undeutlich hervortritt. Bei eingetrockneten Schnitten hingegen, wo die Nitrate in fester Form vorliegen, empfiehlt es sich, konzentrierte Lösungen anzuwenden. Sind nur Spuren von Stickstoffsalzen da, so erhält man mitunter keine Reaktion, wohl aber dann, wenn man den Schnitt am Objektträger austrocknen läßt und hierauf einen Tropfen recht konzentrierter Diphenylaminlösung hinzugibt: es tritt alsbald deutliche Blaufärbung ein, die sowohl makro- als auch mikroskopisch sichtbar wird. Bei der Untersuchung von Schnitten ist es vorteilhaft, soviel von dem Reagens auf dieselben zu bringen, daß sie vollständig untergetaucht sind. Dringt das Diphenylamin recht gleichmäßig von allen Seiten in das Gewebe eines Stengelquerschnittes ein, so läßt sich beobachten, daß die Blaufärbung hauptsächlich im Marke und im Rindenparenchym auftritt, weil hier die Nitrate in großer Menge vorhanden sind.

Das Eintreten einer Blaufärbung in Pflanzenschnitten mit Diphenylamin kann entweder von Nitraten oder von Nitriten oder von beiden zugleich herrühren. Ein positives Ergebnis läßt also vollständig unentschieden, ob das eine oder das andere oder beide vorhanden sind. Versuche von Molisch (XVII) und Klein (I) haben aber gezeigt, daß gewöhnlich in keiner Pflanze salpetrige Säure (Nitrite) aufgefunden wird und daß dieser Befund in der merkwürdigen Fähigkeit der Pflanze, die Nitrite bei der Aufnahme rasch zu verändern, seine Erklärung findet. Die in Pflanzenschnitten mit Diphenylamin auftretende Blaufärbung rührt in der Regel also nicht von Nitriten, sondern von Nitraten her. Die Angabe von Solstien (I), daß die Blaufärbung von Nitriten nicht hervorgerufen werden kann, beruht wohl auf einem Irrtum.

Abgesehen vom Nitration und Nitrition geben noch andere stark oxydierende Körper mit Diphenylamin Blaufärbung, z. B. Eisenchlorid, Eisenoxyd, Wasserstoffsuperoxyd, Kaliumpermanganat und Chromsäure. In der Pflanze kommen jedoch, abgesehen von Salpetersäure, diese Substanzen nicht vor, weshalb wir die in den vegetabilischen Geweben durch Diphenylamin hervorgerufene Blaufärbung eindeutig fast stets auf die Salpetersäure zurückführen können.

Obwohl die Diphenylamin-Reaktion dem Mikrochemiker ausgezeichnete Dienste leistet, so ist sie doch nicht, wie Molisch (XVII, 223) dargetan hat, frei von Schattenseiten. Sie wird nämlich durch die Gegenwart größerer Mengen von Holzsubstanz und anderer or-

ganischer Substanzen, beziehungsweise der daraus unter dem Einflusse von Schwefelsäure rasch entstehenden Huminkörper geschwächt oder verhindert. Imprägniert man einen Fichtenspan oder irgendeinen Querschnitt eines Baumzweiges mit einer verdünnten Salpeterlösung, die für sich allein die Reaktion mit Diphenylamin prompt gibt und tropft man hierauf das Reagens darauf, so färbt sich der Schnitt braunschwarz, aber nicht blau. Und doch ist Salpeter vorhanden. Die Angabe von Czapek (II), dieser Versuch rühre von Schimper her, ist unrichtig. Er wurde zuerst von Molisch (XVII, 223) gemacht. Reagiert man dagegen auf ein salpeterhaltiges, unverholztes Parenchym, so erhält man deutliche Blaufärbung. Im ersteren Falle liegen viele verholzte Zellwände vor; der Holzstoff gibt im Kontakte mit konzentrierter Schwefelsäure sofort Huminsubstanzen und diese verhindern die Reaktion. Von der hemmenden Wirkung der Huminkörper auf die Reaktion kann man sich direkt überzeugen, wenn man aus kristallisiertem Rohrzucker Huminkörper mit Schwefelsäure erzeugt und vor der Ausführung der Probe der zu prüfenden Salpeterlösung etwas von den Huminkörpern zusetzt. Die Reaktion gelingt dann schwach oder gar nicht, da das entstehende blaue Oxydationsprodukt sofort durch die Huminkörper reduziert wird. Ein negatives Ergebnis berechtigt also noch nicht, auf die Abwesenheit von Nitrat zu schließen. Diese Tatsachen wurden von Frank (I, II) ignoriert, von Schimper (I, 218) aber vollständig bestätigt und erweitert.

2. Mit Brucin. Molisch (XVI, 152) verwendet eine Lösung von $^2/_{10}$g Brucin in 10 ccm reiner Schwefelsäure. Ein Tropfen einer solchen Lösung, mit einem Stengelquerschnitt von Amarantus, Capsella oder Tradescantia zusammengebracht, ruft eine hochrote oder rotgelbe vergängliche Färbung hervor. Auch diese Reaktion kann sowohl von Nitraten als auch von Nitriten herrühren, es gilt dafür das, was über diesen Punkt bei der Diphenylaminprobe gesagt wurde. Ist die vorhandene Salpetermenge gering, so ist die Rotfärbung nicht sehr deutlich, da die Brucinreaktion sich an Brauchbarkeit für phytochemische Zwecke mit der Reaktion 1 nicht messen kann.

3. Mit Cinchonamin. Dieses in der Rinde von Remigia Purdieana vorkommende Alkaloid $C_{19}H_{24}N_2O$ gibt nach Arnaud und Padé (I) mit Salpetersäure einen in angesäuertem Wasser fast ganz unlöslichen, kristallisierten Niederschlag. Die Kristallform wird von den Autoren leider nicht gekennzeichnet. Sie empfehlen, Schnitte in eine 0,4proz. Lösung von salzsaurem Cinchonamin zu legen, die mit Salzsäure etwas angesäuert ist. Bei Gegenwart von Nitraten entstehen zahlreiche Kristalle in den Zellen. Boragineen, Solaneen, Urticaceen und Chenopodiaceen geben gute Resultate.

Ellram (I) spricht dem Cinchonamin-Reagens jeden praktischen Wert ab und hält das von Molisch in die Mikrochemie eingeführte Reagens für das beste.

Ich habe das Cinchonamin-Reagens überprüft und kann es gleichfalls nicht empfehlen, weil es sehr unempfindlich ist. Schnitte, die mit Diphenylamin prompt reagieren (Tradescantia guianensis), geben mit dem Arnaudschen Reagens keine oder eine undeutliche Reaktion.

4. Mit „Nitron" (Diphenylanilodihydrotriazol.) Dieses von Busch (I) zuerst zur quantitativen Bestimmung der Salpetersäure

benutzte Reagens wird von der Firma Merck unter dem Namen „Nitron“ in den Handel gebracht. Man verwendet für mikroskopische Zwecke mit Vorteil eine Lösung von 10 g Nitron in 100 g einer 5 proz. Essigsäure. Wird ein salpeterhaltiger Tropfen oder Schnitt von Tradescantia viridis mit einem Tropfen dieses Reagens behandelt, so entstehen sofort oder nach ganz kurzer Zeit Kristallnadeln des betreffenden schwer löslichen Nitrats. Ist ziemlich viel Salpeter vorhanden, so bildet sich in und auf den Zellen ein förmlicher Kristallbrei. Leider ist die Reaktion nicht eindeutig, denn, wie schon Busch fand, geben auch andere Säuren mit Nitron schwerlösliche, kristallinische Fällungen, so Chlorsäure, Überchlorsäure, Rhodanwasserstoff, Ferro- und Ferricyanwasserstoff, Pikrin- und salpetrige Säure, und wie Visser (I) fand, geben auch Oxalsäure und Salicylsäure schwerlösliche und Schwefelsäure, Salzsäure, Ameisen-, Essig-, Bor-, Benzoë-, Wein-, Zitronen- und Phosphorsäure leichtlösliche, untereinander oft recht ähnliche kristallinische Fällungen. Wenn man auch von den zuerst genannten Säuren, die in der Pflanze nicht vorkommen, also nie stören werden, absehen kann, so bleiben doch noch eine erkleckliche Anzahl übrig, von denen einzelne, wie z. B. die im Pflanzenreiche so verbreitete Oxalsäure, recht schwerlösliche, und zwar auch nadelförmige Fällungen geben.

Klein (I, 144), der alle bisher mikrochemisch verwendeten Reaktionen auf Nitrate und Nitrite kritisch überprüft hat, äußert sich über die Verwendbarkeit des Nitronreagens günstig, und zwar folgendermaßen: „Von den anderen schwerlöslichen Nitronverbindungen, deren Fällbarkeitsgrenzen aber bedeutend höher liegen als die des Nitrates (1 : 80000, nach Fluri 1 : 133000), kommen für uns nur das Nitrit und das Oxalat in Betracht. Ersteres ist von salpetersaurem Salz nicht mit Sicherheit zu unterscheiden.“ Für die Unterscheidung vom Oxalat mögen nach Klein folgende Merkmale dienen:

„Nitrat: Nadeln mit stumpfen Enden und Büschel; nach dem Umkristallisieren lange stumpfe Nadeln. Im polarisierten Licht lebhafte Interferenzfarben, besonders nach dem Umkristallisieren.

Oxalat: Es entsteht zuerst eine Gallerte, welche sich allmählich in lange spitze Kristalle und Büschel umwandelt. Nur sehr dicke Kristalle zeigen manchmal stumpfe Enden. Nach dem Umkristallisieren große, gefiederte Büschel. Doppelbrechung, keine Interferenzfarben. Ebenso wie das Nitrat gerade Auslöschung. Bei Gegenwart von wenig Oxalsäure entsteht nur ein Niederschlag von gallertigem Aussehen, dessen kugelige Flocken in polarisiertem Licht schwarze Kreuze zeigen.“ Klein empfiehlt die Reaktion hauptsächlich da, wo die Reaktion mit Diphenylamin im Stiche läßt. Die von Busch angegebene optimale Lösung von 10% Nitron in 5 proz. Essigsäure leistet im allgemeinen die besten Dienste.

Vorkommen.

Mit Hilfe der beiden Proben 1 und 2 hat Molisch (XVI, XVII) zunächst etwa 50 krautartige, verschiedenen Familien angehörige Pflanzen auf ihren Nitratgehalt untersucht und Nitrate mit wenigen Ausnahmen in den Wurzeln, Stengeln und oft auch in den Blättern gefunden. Die Salpetermenge ist bei verschiedenen Pflanzen eine höchst variable. An der Spitze jener Gewächse, die einen ungemein hohen Salpetergehalt aufweisen und die wir geradezu als Nitratpflanzen par excellence

bezeichnen können, stehen vor allem zahlreiche Schuttpflanzen: die Gattungen Amarantus, Chenopodium, Urtica, Mercurialis, Solanum, Sinapis, Helianthus, Capsella und viele andere. Helianthuspflanzen, die auf salpeterreichem Boden kultiviert wurden, speichern soviel Salpeter im Marke auf, daß kleine Stücke davon auf glühende Kohle geworfen unter Detonation verpuffen. Von jenen salpeterreichen Pflanzen bis zu jenen, die nur Spuren von Nitraten oder gar keine nachweisbaren Mengen enthalten, kommen alle Übergänge vor. Gewisse Salpeterpflanzen wie Chenopodium bonus Henricus und Urtica dioica folgen dem Menschen bzw. den Stickstoffsalzen der Fäkalien, und aus dem Vorkommen dieser Pflanzen auf einem bestimmten Orte kann man auf das Vorhandensein größerer Nitratmengen dieser Lokalität schließen. Im Gegensatz zu den genannten krautigen Gewächsen stehen die meisten Holzgewächse, die, von Ausnahmen abgesehen, gewöhnlich keine oder nur eine sehr schwache Nitratreaktion geben (Monteverde [III] und Molisch [XVII, 224]). Nitrate lassen sich, abgesehen von Phanerogamen, auch bei zahlreichen Meeres- und Süßwasseralgen, bei Pilzen, Moosen und Farnen mikrochemisch nachweisen.

Mittels der mikrochemischen Reaktion läßt sich leicht zeigen, daß in krautigen Stengeln die Nitratmenge von unten nach oben abnimmt. Zur Untersuchung dienten Phaseolus multiflorus, Pisum sativum, Solanum tuberosum, Hartwegia comosa. Fertigt man aus dem Stamme der bezeichneten Pflanzen von unten nach oben vorschreitend Querschnitte an, legt sie auf den Objektträger in eine Reihe und behandelt mit Diphenylaminlösung, so werden die dem älteren Stammteil entsprechenden Schnitte tiefblau, die darauffolgenden hellblau, die knapp unterhalb der Vegetationsspitze entnommenen dagegen nur ganz schwach bläulich oder bleiben ganz ungefärbt. Auch auf dem Querschnitt ist die Verteilung keine gleichmäßige. Mark- und Rindenparenchym stellen die eigentlichen Sammelpunkte für den Salpeter dar. Über weitere Details vgl. auch Klein (I). Hier finden sich auch einige Angaben über das höchst seltene Vorkommen von Nitriten in der Pflanze.

Woher kommen die großen Mengen von Salpeter in den Nitratpflanzen? Berthelot und André (I) glaubten behaupten zu können, daß die Nitrate zum großen Teile in der Pflanze selbst entstehen und daß die Salpeterbildung durch bestimmte Zellen vermittelt werde. Molisch (XVII) aber hat auf Grund von Kultur- und mikrochemischen Versuchen gezeigt, daß dem nicht so ist, sondern daß Pflanzen, die in nitrit- und nitratfreien Lösungen gezogen werden, niemals dergleichen Salze enthalten und daß somit die Anschauung Berthelots und Andrés, es werde für gewöhnlich Salpeter auch in der Pflanze gebildet, nicht richtig sein kann. Kommt also Salpeter, von gewissen Bakterien abgesehen, in einer Pflanze vor, so stammt er von außen, und enthält die Pflanze mehr davon als ihr Substrat, auf dem sie gedeiht, so ist dieses Plus einfach durch Speicherung zustande gekommen. Dieses Ergebnis von Molisch wurde später von Frank und Schimper bestätigt[1]).

Schimper hat die Frage, wo denn eigentlich die Nitrate in der höheren Pflanze verarbeitet würden, mikrochemisch geprüft. Im Gegensatz zu Frank kam er zu dem Ergebnis, daß die Assimilation der Salpetersäure hauptsächlich in den grünen Zellen erfolgt und hält es für wahrscheinlich, daß das Chlorophyllkorn nicht bloß bei der Kohlensäureassimilation, sondern auch bei der Nitratverarbeitung als reduzierendes Organ wirke. Was den ersten Punkt anbelangt, daß die Nitratassimilation sich vornehmlich im grünen Blatte vollzieht, dürfte Schimper recht

1) Frank sagt merkwürderweise in einer Fußnote (II, 477) seiner Arbeit, ich hätte seine Versuche bestätigt. Das ist wohl nicht gut möglich, da ja meine Arbeit früher erschienen ist als seine. Bestätigen kann nur der Nachfolger, aber nicht der Entdecker.

behalten, bezüglich des zweiten Punktes aber sprechen die Arbeiten Zaleskis und Suzukis dafür, daß es sich bei der Assimilation der Salpetersäure nicht um einen photochemischen Vorgang handelt. Über diese interessante Frage vgl. Euler (I, 132).

c) Sauerstoff.

Um die von einer Kohlensäure assimilierenden, grünen Pflanze im Sonnenlichte abgeschiedene Sauerstoffmenge mikrochemisch nachzuweisen, gibt es bekanntlich verschiedene Methoden: die gasanalytische, die des Blasenzählens und die Phosphormethode. Für den Physiologen ist es aber von großer Wichtigkeit, die kleinen Mengen von Sauerstoff, die winzige Blätter, einzelne grüne Zellen oder sogar einzelne lebende Chlorophyllkörper abscheiden, konstatieren zu können. Hierfür besitzen wir unter anderem eine von Engelmann (I) herrührende Methode, die wohl zu den besten biologischen Methoden gehört und die der Pflanzenphysiologie bereits ausgezeichnete Dienste geleistet hat.

1. Die Engelmannsche Bakterienmethode basiert auf der außerordentlichen Sauerstoffempfindlichkeit gewisser Bakterien. Es ist bereits lange bekannt, daß viele Bakterien ein lebhaftes Bedürfnis nach Sauerstoff haben, bei Sauerstoffmangel unbeweglich, bei Sauerstoffzufluß beweglich werden, sich unterm Deckglas um Luftblasen ansammeln oder dem sauerstoffreichen Deckglasrande zustreben. Diese Eigentümlichkeit hat sich Engelmann zunutze gemacht und in den Dienst seines Verfahrens gestellt. „Bringt man nun in einen an bewegungsfähigen Bakterien reichen Tropfen einige grüne Zellen, z. B. Euglena, Stückchen von Fadenalgen oder einige braune Diatomeen (z. B. Navicula), bedeckt mit dem Deckglas und stellt eine oder mehrere dieser Zellen im erleuchteten Gesichtsfeld des Mikroskops bei etwa 200—300maliger Vergrößerung ein, so sieht man, wie sich in kurzer Zeit lebhaft schwärmende Bakterien um diese Zellen anhäufen. Dieselben bleiben hier noch in lebhafter Bewegung, wenn an allen übrigen Stellen im Tropfen bereits völliger Stillstand eingetreten ist. Verdunkelt man nun plötzlich das Gesichtsfeld so weit, daß die schwärmenden Bakterien noch deutlich sichtbar sind (oft reicht viel geringere Verdunkelung aus), so stellen letztere alsbald ihre Bewegung ein und bleiben entweder still am Orte liegen oder zerstreuen sich allmählich durch Molekularbewegung in der umgebenden Flüssigkeit. Läßt man jetzt wieder volles Licht einfallen, so beginnen augenblicklich die hin- und herschießenden Bewegungen im Umkreis der chlorophyllhaltigen Zelle aufs neue, und häufen sich die schwärmenden Bakterien daselbst allmählich wieder an. Diese Versuche können in kurzer Zeit am nämlichen Objekt viele Male mit stets gleichem Erfolg wiederholt werden.

Die nächstliegende und, wie genauere Prüfung lehrt, auch die einzig zulässige Erklärung der letztbeschriebenen Erscheinungen ist diese: Die chlorophyllhaltigen Zellen scheiden im Lichte Sauerstoff ab und dieser ist es, der die Bakterien veranlaßt, sich zu bewegen und an der Sauerstoffquelle sich anzusammeln: Im Dunkeln hört die Sauerstoffausscheidung auf und der infolge des raschen Sauerstoffverbrauchs der Bakterien jetzt eintretende Sauerstoffmangel macht den Bewegungen ein Ende. In den Bewegungen der Fäulnisbakterien ist demnach ein

ebenso einfaches wie äußerst empfindliches Reagens auf freien Sauerstoff gegeben."

Bei der Ausübung dieser Methode kommt es vor allem darauf an, sich das passende Bakterienmaterial zu verschaffen. Zu diesem Zwecke lege man sich verschiedene Kulturen von Bakterien in Gläsern an. Einige Einsiedgläser werden mit gewöhnlichem Leitungs- oder Brunnenwasser beschickt und dann entweder mit einigen faulen Erbsen, mit etwas Fleischextrakt, mit Pferde- oder Kuhmist, mit Heu oder einem toten Regenwurm versehen. Ein oder das andere Gefäß wird nach einigen Tagen hierfür ein günstiges Material liefern. Bewegliche Stäbchen oder Spirillen treten oft dominierend auf und können dann ohne weiteres verwendet werden. Noch besser ist es, sich von sauerstoffempfindlichen beweglichen Bakterien Reinkulturen zu verschaffen, weil dann die ganze Versuchsanstellung sauberer ausfällt. Der Bakterientropfen wird auf den Objektträger gebracht, mit den zu untersuchenden kohlensäureassimilierenden Zellen versehen, mit dem Deckglas bedeckt und der Rand rasch mit Vaselin, Wachs oder Paraffin verschlossen, um die Verdunstung der Flüssigkeit und ein Zuströmen des Sauerstoffes zu verhindern. Im Anfange erscheinen die Bakterien gleichmäßig verteilt, aber alsbald ändert sich, falls im Lichte beobachtet wird, das Bild: die Bakterien sammeln sich in unmittelbarer Nähe oder auf eine geringe Distanz um assimilierende, d. h. Sauerstoff abgebende Zellen an. Bei Verdunkelung zerstreuen sie sich, werden unbeweglich, um bei erneuter Beleuchtung wieder zu den grünen Zellen zu schwimmen (Fig. 35). Hat man gleichzeitig zwei oder mehr sauerstoffempfindliche Bakterien im Präparat, so läßt sich beobachten, daß sie sich nicht selten in verschiedenen Distanzen vor der sauerstoffexhalierenden Zelle ansammeln, weil sie auf verschiedene Sauerstoffspannungen gestimmt sind. Man kann hierdurch bis zu einem gewissen Grade eine Separation der verschiedenen Arten herbeiführen. Dies gelingt besonders gut mit Spirillen.

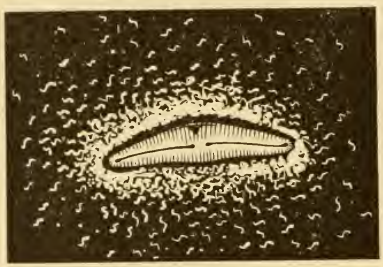


Fig. 35.
Cocconema sp. entwickelt im Lichte Sauerstoff und dieser lockt Spirillum Undula in großer Menge an. Vergr. 300.

Da viele farblose Infusorien und Flagellaten ebenfalls oft sehr sauerstoffempfindlich sind, kann man auch diese als Reagens auf Sauerstoff verwenden, z. B. Paramaecium aurelia, Colpidium colpoda u. a. Die Bakterien eignen sich ihrer größeren Geschwindigkeit, leichteren Beschaffbarkeit und ihrer Kleinheit wegen viel besser hierzu als Infusorien.

Die Empfindlichkeit dieser biologischen Reaktion ist eine geradezu verblüffende. Sehr sensible Bakterien, namentlich gewisse Spirillen, zeigen noch den trillionsten Teil eines Milligramms Sauerstoff an. Nach C. Maxwells Berechnung beträgt der wahrscheinliche Wert des Gewichtes

eines Sauerstoffmoleküls etwa ein Dreizehntrillionstel Milligramm, mit anderen Worten, die Bakterienprobe vermag (theoretisch) sicher noch ein Molekül Sauerstoff anzuzeigen! Welchen Wert eine solche Methode für die Physiologie hat, läßt sich leicht ermessen und in der Tat wurden mit Hilfe dieses Verfahrens schon mehrere fundamentale Tatsachen festgestellt. — Bei der Durchführung der Reaktion muß auf eventuelle Fehlerquellen geachtet werden, denn es können auch durch Ausscheidungen verschiedener Art Bakterien chemotaktisch gereizt werden. In solchen Fällen wird man nicht vernachlässigen dürfen, im Lichte und im Finstern zu prüfen, denn falls es sich wirklich um Sauerstoffproduktion infolge von Kohlensäureassimilation handelt, darf die Ansammlung der Bakterien nur im Lichte erfolgen.

2. Die Leuchtbakterienmethode. Verschiedene Bakterien haben die Fähigkeit zu leuchten und ihre Lichtentwicklung erscheint unter anderem von der Gegenwart des Sauerstoffes abhängig. Schon außerordentlich geringe Mengen Sauerstoff reichen hin, um die Lichtproduktion zu ermöglichen. Ich pflege dies in meinen Vorlesungen in folgender Weise zu demonstrieren (XV, 105). Eine 1—$1^1/_2$ m lange und etwa 8 mm breite, an einem Ende zugeschmolzene Glasröhre wird mit stark leuchtender Bouillon (gemischt mit Bacterium phosphoreum) nahezu ganz gefüllt, so daß an der oberen Öffnung ein $^1/_2$ cm langes Stück mit Luft versehen übrig bleibt. Läßt man nun eine so vorbereitete Röhre etwa eine Viertelstunde oder länger stehen, so erlischt, da die Bakterien den Sauerstoff veratmen, die Bouillon mit Ausnahme des Meniskus, wo der Sauerstoff die Bakterien unmittelbar erreicht. Verschließt man jetzt die Röhre mit dem Daumen und kehrt sie um, so steigt die Luft in Form einer Blase auf und macht die ganze Bouillon wieder leuchtend; man glaubt im Finstern eine langsam aufsteigende Leuchtrakete zu sehen. Stellt man die Röhre dann wieder ruhig hin, so erlischt binnen einer Viertelstunde oder noch früher die Bouillon und der Versuch kann dann von neuem wiederholt und die Bouillon neuerdings leuchtend gemacht werden (Molisch XV, 105). Beijerinck (I, II) hatte nun den ingeniösen Einfall, die Sauerstoffproduktion grüner Zellen durch die Lichtentwicklung der Photobakterien zu veranschaulichen und machte folgendes wichtige Experiment. Lebende Blätter vom Klee wurden mit destilliertem Wasser verrieben und das Gereibsel filtriert. Man erhält hierbei ein grünes Filtrat, in dem das im Wasser lösliche lebende Protoplasma und zahlreiche Chlorophyllkörner vorhanden sind. Wenn man nun diese grüne Flüssigkeit mit einer Kultur von Leuchtbakterien in Fischbouillon (mit 3% Kochsalz oder im Meerwasser) in einer Proberöhre oder in einer Flasche mischt und das Ganze einige Zeit stehen läßt, so wird die Flüssigkeit nach Verbrauch des absorbierten Sauerstoffes dunkel, darauf dem Lichte ausgesetzt, wird die Flüssigkeit, bzw. es werden die darin verteilten Bakterien infolge des im Lichte entbundenen Sauerstoffes wieder leuchtend. Ist der Blattsaft frisch und wird die Flasche eine Minute oder länger in die volle Sonne gestellt, so wird so viel Sauerstoff gebildet, daß die Bakterien, hinauf ins Dunkle gebracht, noch einige Minuten fortfahren zu leuchten. Wie groß die Empfindlichkeit dieser Methode ist, geht daraus hervor, daß das Licht eines angezündeten Streichholzes genügt, um die Sauerstoffproduktion und damit das Aufleuchten der Bakterien hervorzurufen.

Bei mehrstündigem Stehen verliert das grüne Filtrat die Fähigkeit, Kohlensäure zu assimilieren. Abgesehen vom Klee erhielt ich namentlich mit den Blättern von Lamium album, Sambucus nigra und Calendula officinalis sehr gute Resultate. Baldasseroni (I) empfiehlt Blätter von Spinacia oleracea, Senecio vulgaris, Veronica usw.

Als Leuchtbakterie verwende man Bacterium phosphoreum (Cohn) Molisch, das sich durch sein brillantes Leuchten auszeichnet und von Rindfleisch leicht erhalten werden kann. Als Kulturmedium eignet sich eine schwach alkalische Fleischbouillon von folgender Zusammensetzung: 1 l verdünnter Rindfleischsaft (von $^1/_8$ kg Rindfleisch), 10 g Pepton, 10 g Glyzerin und 30 g Kochsalz. Soll in einem festen Medium beobachtet werden, so sind zu dieser Bouillon noch 100 g Gelatine hinzuzufügen. Über die Beschaffung der genannten Bakterie und die Gewinnung von Reinkulturen derselben vergleiche man Molisch (XV).

Sehr zweckmäßig erweisen sich bei den Leuchtversuchen Glasgefäße (Präparatengläser) von etwa 9 cm Höhe und 2 cm innerer Breite mit eingeriebenem Stöpsel. Wird ein Extrakt, z. B. aus zerriebenen Blättern, auf sein Sauerstoffentbindungsvermögen geprüft, so wird das Glasgefäß zu $^1/_3$ bis zur Hälfte mit frischem Filtrat, sodann bis hinauf mit stark leuchtender Bouillon gefüllt und schließlich der Stöpsel unter Vermeidung von Luftblasen eingesetzt. Nach ½ Stunde oder etwas längerer Zeit ist das Leuchten im Finstern erloschen und die Mischung für den Versuch fertig (Molisch XIV).

Die Schattenseiten der sonst so ausgezeichneten Leuchtbakterienmethode liegen unter anderem darin, daß sie bei Verwendung ganzer, frischer Blätter höherer Pflanzen gewöhnlich versagt. Es ist dies vielleicht darauf zurückzuführen, daß die Schließzellen der Spaltöffnungen durch das Kochsalz der Bouillon plasmolysiert, die Spalten geschlossen und hierdurch die Pforten für den Austritt des entbundenen Sauerstoffs verlegt werden.

3. Die Blutprobe. Hoppe-Seyler (I) machte zuerst folgenden Versuch: „In ein unten zugeschmolzenes Glasrohr von ungefähr 1,5 bis 2 cm Weite und 20—30 cm Länge wird ein ungefähr 1—1,5 cm langes Stück von der Wasserpest, Elodea canadensis, eingesetzt, durch ein Trichterrohr Wasser eingegossen, dem ein wenig faulendes Blut zugesetzt ist, bis die Pflanze unter Wasser steht, dann wird die Röhre oben vor dem Gebläse zu einem engen Röhrchen ausgezogen, erkalten gelassen, bis zur Enge mit dem blutigen Wasser gefüllt, dann nahe über dem Wasserniveau zugeschmolzen". Bei richtiger Verdünnung des Blutes erkennt man bei Beobachtung im Sonnenlichte mittels eines Browningschen Taschenspektroskops die beiden charakteristischen Absorptionsbänder des Oxyhämoglobins. Läßt man dann die Röhre im Finstern kurze Zeit liegen, so verschwindet infolge der Atmung der Fäulnisbakterien und der Elodea der Sauerstoff und bei erneuter Prüfung erscheint jetzt, oft schon nach wenigen Minuten, an Stelle der beiden früheren Absorptionsstreifen nur der eine des Hämoglobins. Sowie das Rohr wieder ins Sonnenlicht gehalten wird, tauchen im Spektroskop sehr bald wieder die beiden Absorptionsbänder des Oxyhämoglobins auf, zuerst in der Nähe der Pflanze, bei längerer Beleuchtung innerhalb der ganzen Flüssigkeit.

Innerhalb der nächsten 8 Tage kann der Versuch beliebig oft wiederholt werden, später versagt er, offenbar weil die Lebensbedingungen für die Pflanze zu abnorm werden.

Die Blutprobe wurde dann später von Engelmann (II) auch mikroskopisch verwertet. Wird ein chlorophyllreicher Faden von Spirogyra von etwa 0,1 mm Dicke und 1 cm Länge unter das Deckglas in einen Tropfen wenig oder nicht verdünnten Rinderblutes, das durch einen Strom Wasserstoff oder Kohlensäure eine deutlich venöse Farbe angenommen hatte, gebracht und dann das Präparat in helles diffuses Licht gelegt, so färbte sich innerhalb 10—15 Minuten die unmittelbare Umgebung des Algenfadens bis auf $^1/_2$, ja 2 mm Entfernung hell arteriell rot. In direktem Sonnenlicht erscheint die Rötung innerhalb eines Bruchteils einer Minute. Da die Grenze zwischen der dunklen venösen und der hellen arteriellen Farbe sehr scharf ist, kann sie auf weniger als 0,1 mm genau im Mikroskop bestimmt werden. Sowie das Präparat ins Dunkle gebracht wird, kehrt die venöse Farbe in derselben Zeit wieder zurück. Obwohl diese Methode sich in betreff der Empfindlichkeit nicht mit der Bakterienmethode messen kann, entsteht doch bei intensiver Beleuchtung um eine einzelne grüne Zelle ein hellroter Hof, es wird also schon eine sehr geringe Menge Sauerstoff durch die Blutprobe angezeigt.

Die Sauerstoffausscheidung im Lichte und Sauerstoffabsorption im Finstern konnte mittels des Spektralokulars oder noch besser mittels des Mikrospektralphotometers dargetan werden. Bei Belichtung der Zelle treten schon nach 10—20 Sekunden die beiden Bänder des Oxyhämoglobins auf, um bei Verdunkelung dem Hämoglobinband Platz zu machen.

4. Nachweis mit Indigweiß. Regnard (I), Beijerinck (I, 741) und Kny (I) haben durch Natriumhydrosulfit reduziertes Indigblau zur Prüfung der Chlorophyllfunktion verwendet. Bringt man in eine mit diesem Reagens (s. p. 21) gefüllte Flasche einen frischen Sproß von Elodea canadensis oder Funaria hygrometrica und besonnt man nach sorgfältigem Verschluß der Flasche die Pflanzen, so bildet sich nach wenigen Minuten ein deutlich blauer Hof. Sowie der Hof entsteht, kann er durch Schütteln leicht zum Verschwinden gebracht, beim ruhigen Stehen wieder alsbald hervorgebracht werden. Im allgemeinen ist aber doch recht starkes Licht zur Bildung von Indigblau notwendig, woraus schon hervorgeht, daß sich diese Methode mit der Engelmannschen und der Leuchtbakterienmethode bezüglich Empfindlichkeit nicht messen kann.

Wasserstoffsuperoxyd konnte bisher in der Pflanze unter normalen Verhältnissen nicht nachgewiesen werden, obwohl es sich künstlich in die lebende Zelle einführen läßt. Die Behauptung, daß sich H_2O_2 bei der Kohlensäureassimilation bilde, hat sich als unrichtig erwiesen (Molisch XXIV).

Literatur

zu p. 36 bis 98.

Arnaud, A. et Padé, L., I. Recherche chimique de l'acide nitrique, de nitrates dans les tissus végétaux. (Compt. rend. 1884, T. XCVIII, p. 1488.)

—, II. Annales de Chimie et de Physique. 1890. sér. VI, T. XIX, p. 123.

Babiy, J., I. Über das angeblich konstante Vorkommen von Jod im Zellkern. (Ber. d. deutsch. bot. Ges. 1913, p. 35.)

Baldasseroni, V., I. Annali di Bot. 1906, IV. 287.

Behrens, H., I. Anleitung zur mikrochemischen Analyse. 2. Aufl. 1899.

Beijerinck, M. W., I. Kulturversuche mit Zoochlorellen usw. (Bot. Ztg. 1890, p. 744.)

—, II. Photobacteria as a Reactive in the Investigation of the Chlorophyllfunction. (Koningl. Akad. van Wetensch. te Amsterdam. 1901, p. 45.)

Belzung, E., I. Sur divers principes issus de la germ. et leur crist. intercellul. (Journ. d. Bot. 1892, p. 49.)

—, II. Nature des sphérocristaux des Euphorbes cactiformes. (Journ. d. Bot. 1893, T. VII, p. 221.)

Benecke, W., I. Über Kulturbedingungen einiger Algen. (Bot. Ztg. 1898, Jg. 56, p. 83.)

Bensley, R. R., I. An Examination of the Methods for the microchem. Detection of Phosphorus Compounds etc. (Biolog. Bull. 1906, Vol. 10, p. 49.)

Bersa, E., I. Über das Vorkommen von kohlensaurem Kalk in einer Gruppe von Schwefelbakterien. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. i. Wien. Abt. I. Bd. CXXIX, 1920, p. 231.)

Berthelot et André, I. Sur la formation du salpêtre dans les végétaux. (Compt. rend. 1881, T. XCVIII, u. T. XCIX.)

Boehm, J., I. Über den vegetabilischen Nährwert der Kalksalze. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. i. Wien. 1875. Bd. LXXI, Abt. I, p. 12—13.)

Bourcet, I. De l'iode dans l'organisme, ses origines, son rôle, son l'élimination. Thèse Paris, Jouve et Boyer 1900.

Brunswik, H., I. Über das Vorkommen von Gipskristallen bei den Tamaricaceae. (Sitzungsber. d. Wien. Akad. d. Wiss. i. Wien. Abt. I. Bd. CXXIX, 1920, p. 115.)

—, Über die Färbbarkeit der Silberchloridkristalle mit organischen Farbstoffen. (Ztschr. f. wiss. Mikroskopie, Bd. XXXIX, 1921, p. 150—152.)

Busch, M., I. Gravimetrische Bestimmung der Salpetersäure. (Ber. d. d. chem. Ges. Jg. 38, 1905, Bd. I, p. 861—866. Refer. i. Chem. Zbl. 1905, Jg. 76, I, p. 900.)

Cario, R., I. Anatomische Untersuchung von Tristicha hypnoides Spreng. (Bot. Ztg. 1881, Jg. 39, p. 25.)

Cohn, F., I. Beiträge zur Biologie der Pflanzen. 1875, Bd. I, Heft 3.

—, II. Über Tabaschir. (Ebenda. 1887, Bd. IV, Heft 3, p. 365.)

Corsini, A., I. Über die sogenannten „Schwefelkörnchen", die man bei der Familie der „Beggiatoaceae" antrifft. (Zbl. f. Bakt. Abt. II, 1905, Bd. XIV, p. 272.)

Cramer, I. In Dr. M. Müllers chem.-phys. Beschreibung der Thermen von Baden u. der Schweiz. 1870.

Crüger, H., I. Westindische Fragmente. (Bot. Ztg. 1857, Jg. 15, p. 281.)

Czapek, F., I. Zur Lehre der Wurzelausscheidungen. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1896, Bd. XXIX, p. 332.)

—, II. Biochemie. Bd. II, p. 521.

Ebermayer, E., I. Physiolog. Chemie der Pflanzen. Berlin 1882, p. 765.

Ellram, W., I. Über den mikrochemischen Nachweis von Nitraten in Pflanzen. (Sitzungsber. d. Naturf. Ges. d. Univ. Dorpat 1895, Bd. XI, p. 105—116.)
Engelmann, Th. W., I. Neue Methode z. Untersuchung der Sauerstoffabscheidung pflanzlicher und tierischer Organismen. (Bot. Ztg. 1881, Jg. 39, p. 441; 1883, Jg. 41, p. 1; 1886, Jg. 44, p. 43.)
—, II. Über Blutfarbstoff als Mittel, um den Gaswechsel von Pflanzen im Licht u. im Dunkeln zu unterscheiden. (Biolog. Zbl. 1888/89, Bd. VIII, p. 36.)
Euler, H., I. Grundlagen u. Ergebnisse d. Pflanzenchemie. II. Jg. 1908, p. 132.
Fischer, A., I. Die Zelle der Cyanophyceen. (Bot. Ztg. 1905, Jg. 63, p. 114.)
—, II. Über das Vorkommen von Gipskristallen bei den Desmidiaceen. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1884, Bd. XIV, p. 133.)
Fluri, M., I. Der Einfluß von Aluminiumsalzen auf das Protoplasma. (Flora 1909, Bd. XCIX, p. 81.)
Fresenius, C. R., I. Anleitung zur qualitativen chemischen Analyse. 16. Aufl. 1895, p. 121.
Frank, B., I. Untersuchungen über die Ernährung der Pflanze mit Stickstoff usw. (Landwirtsch. Jahrb. 1888, p. 421.)
—, II. Über Ursprung und Schicksal der Salpetersäure in den Pflanzen usw. (Ber d. D. bot. Ges. 1887, p. 477.)
Gautier, A., I. Compt. rend. 1899, T. CXXIX, p. 189.
—, Compt rend. 1899, T. CXXVIII, p. 643.
Gicklhorn, J., I. Zur Morphologie und Mikrochemie einer neuen Gruppe der Purpurbakterien. Ber. d. D. bot. Ges. 1921, Bd. XXXIX, p. 322—319.
Gilson, G., I. On the Affinity of Nuclein for Iron and other Substances. (Report. Brit. Ass. Adv. Sci. 1892, p. 778.)
Gola, G., I. Lo zolfo e i suoi composti nell' economia delle piante. (Malpighia 1902, Vol. XVI, p. 368.)
Gössl, J., I. Über das Vorkommen des Mangans in der Pflanze usw. (Beihefte z. Bot Zbl. 1905, Bd. XVIII, I. Abt., p. 119.)
Golenkin, M., I. Algologische Notizen. (Bull. de la soc. impér. d. naturalistes de Moscou. Jg. 1894, n. sér., T. VIII, p. 257. Ref. Zeitschr. f. Mikr. 1894, Bd. XI, p. 533.)
Grob, A., I. Beiträge z. Anatomie der Epidermis der Gramineenblätter. Stuttgart 1896, Bibliotheca Botanica, 36. Heft.
Haberlandt, G., I. Zur Anatomie und Physiologie der pflanzlichen Brennhaare. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. i. Wien 1886, Bd. XCIII, Abt. I, 123.)
Hänlein u. Councler, I. Landw. Versuchsst. 1879, Bd. XXIII, p. 471.
Hansen, A., I. Über Sphärokristalle. (Arb. d. Würzburger Inst. 1884, Bd. III, p. 101.)
Hansteen, B., I. Über das Verhalten der Kulturpflanzen zu den Bodensalzen. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1910, Bd. XLVII, p. 289.)
Haushofer, K., I. Mikroskopische Reaktionen. Braunschweig 1885.
Heinricher, E., I. Ein reduziertes Organ bei Campanula persicifolia und einigen anderen Campanula-Arten. (Ber. d. D. bot. Ges. 1885, Bd. III, p. 4.)
Hinze, G., I. Über Schwefeltropfen im Innern von Oscillarien. (Ber. d. D. bot. Ges. 1903, Bd. XXI, p. 394.)
Holzner, G., I. Über Kristalle in den Pflanzenzellen. Inaug.-Diss. u. Flora 1864, p. 34.
Hoppe-Seyler, F., I. Einfacher Versuch zur Demonstration der Sauerstoffausscheidung durch Pflanzen im Sonnenlichte. (Zeitschr. f. physiol. Chemie 1878/79, Bd. II, p. 425.)

Iwanoff, L., I. Das Auftreten und Schwinden von Phosphorverbindungen in der Pflanze. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1901, Bd. XXXVI, p. 355.)

Jönsson, B., I. Entstehung schwefelhaltiger Ölkörper in den Myzelfäden von Penicillium glaucum. (Bot. Zbl. 1889, Bd. XXXVII, p. 201.)

Jung, J., I. Über den Nachweis und die Verbreitung des Chlors im Pflanzenreiche. (Sitzungsber. d. Akad. d. Wiss. in Wien 1920, Bd. CXXIX, p. 297.)

Justus, J., I. Über den physiologischen Jodgehalt der Zelle. (Virchows Archiv 1902, Bd. CLXX, Folge XVI, Bd. X, p. 501.)

—, II. Ebenda 1904, CLXXVI, Folge XVII, Bd. VI, p. 1. (Refer. Biochem. Zbl. Bd. I, 1903, p. 142.)

Kärner, W., I. Über den Abbruch und Abfall pflanzlicher Behaarung und den Nachweis von Kieselsäure in Pflanzenhaaren. (Nova acta d. K. Leop.-Carol.-Deutsch. Akad. d. Naturf. 1889, Bd. LIV, Nr. 3, p. 257.)

Kerner, A. v., I. Pflanzenleben. Leipzig 1887, Bd. I, p. 300.

Kisser, J., Über den mikrochemischen Nachweis gelöster Kalziumsalze als Kalziumtartrat. (Beih. z. bot. Zbl. 1922, Bd. XXXIX, p. 116.)

Klebahn, H., I. Gasvakuolen, ein Bestandteil der Zellen bei wasserblütebildenden Phykochromaceen. (Flora 1895, p. 241.)

Klein, R., I. Über Nachweis und Vorkommen von Nitraten und Nitriten in Pflanzen. (Beihefte z. bot. Zbl. 1913, Bd. XXX, Abt. I, p. 141.)

Kny, L., I. Die Abhängigkeit der Chlorophyllfunktion von den Chromatophoren und vom Cytoplasma. (Ber. d. D. bot. Ges. 1897, Bd. XV, p. 388.)

Kohl, F. G., I. Anatomisch-physiologische Untersuchung der Kalksalze und Kieselsäure in der Pflanze. Marburg 1889.

Kolderup-Rosenvinge, L., I. Sphärokristalle bos Mesembryanthemum. (Videnskabelige Meddelelser fra den Naturhistor. foren i. Kjobenhavn 1877/78, p. 305.)

Kolkwitz, R., I. Beitr. zur Biologie der Florideen. (Wiss. Meeresunters. Neue Folge, Bd. IV, Abt. I, Helgoland 1900.)

Kolpin, Ravn F., I. Sur l'existence de „cystolithes rudimentaires" silicifiés chez quelques Loranthacées. (Botanisk Tidsskrift 1897, Bd. XXI, Kopenhagen, p. 311.)

Koninck, L. L. de, I. Neue Reaktion auf Kali. (Zeitschr. f. anal. Chemie 1881, Bd. XX, p. 390.)

Kratzmann, E., I. Der mikrochemische Nachweis und die Verbreitung des Aluminiums im Pflanzenreich. (Sitzber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1913, Abt. I, p. 311.)

—, II. Zur physiologischen Wirkung der Aluminiumsalze auf die Pflanze. (Sitzber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1914, Bd. CXXIII, Abt. I, p. 221.

Küster, E., I. Die anatomischen Charaktere der Chrysobalaneen, insbesondere ihre Kieselablagerungen. (Bot. Zbl. 1897, Bd. LXIX, p. 46.)

Kylin, H., I. Untersuchungen über die Biochemie der Meeresalgen. (Zeitschr. f. physiol. Chemie., Bd. XCVI.)

—, II. Über Blasenzellen einiger Florideen und ihre Abspaltung von Jod. (Arkiv för Botanik 1915, Bd. 14, Nr. 5.)

Ladenburg, A., I. Ber. d. D. Chem. Ges. 1872, Bd. V, p. 568.

Lange, W., I. Über die Natur der in den Pflanzen vorkommenden Siliziumverbindungen. (Ber. d. D. Chem. Ges. 1878, Jg. XI, p. 822.)

Leitgeb, H., I. Über Sphärite. (Mitteil. a. d. bot. Institut zu Graz 1888, p. 257.)

Lilienfeld, L. u. Monti, A., I. Über die mikrochemische Lokalisation des Phosphors in den Geweben. (Zeitschr. f. physiol. Chemie 1893, Vol. XVII, p. 410.)

Linsbauer, K., I. Zur physiologischen Anatomie der Epidermis und des Durchlüftungsapparates der Bromeliaceen. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1911, Bd. CXX, Abt. I, p. 328.)

Loew, O., I. Über die physiologischen Funktionen der Calciumsalze. (Bot. Zbl. 1898, Bd. LXXIV, p. 257.)

Loman, C., I. Freies Jod als Drüsensekret. (Tijdschr. d. nederlandsche Dierkundige Vereening. 2. ser. Deel I, 1885—1887.)

Macallum, A. B., I. Die Methoden und Ergebnisse der Mikrochemie in der biologischen Forschung. (Ergebnisse d. Physiologie 1908, Jg. VII.)

—, II. On the Demonstration of the Presence of Iron in Chromatin by Microchemical methods. (Proceedings of the Royal Society of London 1892, Vol. L, p. 280.)

—, III. On the distribution of Potassium in Animal and Vegetable Cells. (Journ. of Physiolog. 1905, Vol. XXXII, p. 95.)

—, IV. On the Detection and Lokalisation of Phosphorus in Animal and Vegetable Cells. (Proc. Roy. Soc. 1898, Vol. LXIII, p. 467.)

—, V. On the Nature of the Silver Reaktion in Animal and Vegetable Tissues. (Ebenda 1905, Vol. B. LXXVI, p. 217.)

—, u. Miss M. L. Menten, On the Distribution of Chlorides in Nerve Cells and Fibres. (Ebenda 1906, Vol. B, LXXVII, p. 165.)

Mangin, L., I. Propriétés et réactions des composés pectiques. (Journ. de Botanique 1892, Ref. Bot. Zbl. 1893, Bd. LVI, p. 175.)

Melnikoff, I. Untersuchungen über das Vorkommen des kohlensauren Kalkes in der Pflanze. Inaug.-Diss. Bonn 1877.

Meyer, E., I. Über die Resorption und Ausscheidung des Eisens. (Ergebnisse d. Physiologie 1906, Jg. V, Abt. I u. II, p. 722—733.)

Miliarakis, I. Die Verkieselung lebender Elementarorgane bei den Pflanzen. Inaug.-Diss. 1884.

Moebius, M., I. Über ein eigentümliches Vorkommen von Kieselkörpern in der Epidermis und den Bau des Blattes von Callisia repens. (Wiesner-Festschrift, Wien 1908, p. 81.)

Mohl, H. v., I. Über das Kieselskelett lebender Pflanzenzellen. (Bot. Ztg. 1861, p. 209.)

Molisch, H., I. Die Pflanze in ihren Beziehungen zum Eisen. Jena 1892. Hier die einschlägige Literatur bis zum Jahre 1892.

—, II. Bemerkungen über den Nachweis von maskiertem Eisen. (Ber. d. D. bot. Ges. 1893, 1893, Bd. XI, p. 73.)

—, III. Die Eisenbakterien. Jena 1910.

—, IV. Über lokale Membranfärbung durch Manganverbindungen bei einigen Wasserpflanzen. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1909, Bd. CXVIII, p. 1427.)

—, V. Der Einfluß des Bodens auf die Blütenfarbe der Hortensien. (Bot. Ztg. 1897, p. 49.)

—, VI. Studien über den Milchsaft und Schleimsaft der Pflanzen. Jena 1901.

—, VII. Die Ernährung der Algen. I. Abhandl. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1895, Bd. CIV, Abt. I.)

—, VIII. Über die Ablagerung von kohlensaurem Kalk im Stamme dikotyler Holzgewächse. (Ebenda 1881, Bd. LXXXIV.)

—, IX. Über kalkfreie Cystolithen. (Österr. bot. Zeitschr. 1882, Nr. 11.)

—, X. Die sogenannten Gasvakuolen und das Schweben gewisser Phykochromaceen. (Bot. Ztg. 1903, p. 47.)

Molisch, H., XI. Zwei neue Purpurbakterien mit Schwebekörperchen. (Bot. Ztg. 1906, Jg. 64, p. 223.)
—, XII. Die Kieselzellen in der Steinschale der Steinnuß (Phytelephas). (Zentralorgan f. Warenkunde u. Technologie 1890, H. 3. Verlag v. F. Krais in Stuttgart.)
—, XIII. Eine merkwürdige Form von Kieselzellen bei Calathea Seemannii. (Sitzungsber. d. zool.-bot. Ges. in Wien 1887, Bd. XXXVII, 4. Mai.)
—, XIV. Über Kohlensäureassimilationsversuche mittels der Leuchtbakterienmethode. (Bot. Ztg. 1904, Jahrg. 62. p. 1.)
—, XV. Leuchtende Pflanzen. Jena 1912, 2. Aufl.
—, XVI. Über den mikrochemischen Nachweis von Nitraten und Nitriten in der Pflanze mittels Diphenylamin oder Brucin. (Ber. d. D. bot. Ges. 1883, Bd. I.)
—, XVII. Über einige Beziehungen zwischen anorganischen Stickstoffsalzen und der Pflanze. (Sitzber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1887, Bd. XCV, I. Abt.)
—, XVIII. Beitr. z. Mikroch. Nr. 4: Über organische Kalkkugeln und über Kieselkörper bei Capparis. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1916, Bd. XXXIV, p. 154.)
—, XIX. Beitr. z. Mikroch. Nr. 6: Über den Nachweis von Kalk mit Kalilauge und kohlensaurem Kali. (Ebenda, p. 357.)
—, XX. Beitr. z. Mikroch. Nr. 5: Über den Nachweis von gelösten Kalkverbindungen mit Soda. (Ebenda, p. 288.)
—, XXI. Ebenda. Über Kieselkörper in der Epidermis von Campelia Zanonia Rich. (Ebenda 1918, p. 277.)
—, XXII. Ebenda. Die Riesenkieselkörper im Blatte von Arundo donax. (Ebenda 1918, p. 474.)
—, XXIII. Ebenda. Über das Verhalten der Cystolithen gegen Silber- und andere Metallsalze. (Ebenda 1918, p. 474.)
—, XXIV. Über die angebliche Entwicklung von Wasserstoffsuperoxyd bei der Kohlensäureassimilation. (Biochem. Ztschr. 1921, Bd. CXXV, p. 257—261.)
Monteverde, N. A., I. Über die Ablagerung von Calcium- und Magnesium-Oxalat in der Pflanze. Petersburg 1889. (Refer. Bot. Zbl. 1990, Bd. XLIII, p. 327.)
—, II. Über Kristallablagerungen bei den Marattiaceen. (Arb. d. St. Petersburger Naturf. Ges. 1886, Bd. XVII, p. 33. Refer. Bot. Zbl. 1887, Bd. XXIX, p. 358.)
—, III. Über Verbreitung und Verteilung des Salpeters in der Pflanze usw. (Naturf. Ges. zu St. Petersburg 1882, Bd. VII, Teil II.)
Müller, C., I. Kritische Untersuchungen über den Nachweis von maskiertem Eisen in der Pflanze usw. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1893, Bd. XI, p. 252.)
—, H. C., I. Über die Entstehung von Kalkoxalatkristallen in pflanzlichen Zellmembranen. Prag 1890.
Nathanson, A., I. Über eine neue Gruppe von Schwefelbakterien und ihren Stoffwechsel. (Mitteil. d. zool. Station zu Neapel 1902, Bd. XV, p. 655.)
Naumann, E., I. Fenol som klarmiedel. (Bot. Notiser, 1916, p. 197.)
Nestler, A., I. Zur Kenntnis der Wasserausscheidung an den Blättern von Phaseolus multiflorus Wild. u. Boehmeria. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1899, Bd. CVIII, Abt. I, p. 704.)
Netolitzky, F., I. Verkieselungen bei den Rubiaceae-Galieae. (Österr. bot. Zeitschr. 1911, 61. Jahrg., p. 409.)
—, II. Kieselmembranen der Dicotyledonenblätter Mitteleuropas. (Ebenda 1912, 62. Jahrg., p. 353.)
—, III. Die Oxalkristalle von Quillaja saponaria L. (Pharm. Post 1919.)
Nickel, E., I. Die Farbenreaktionen der Kohlenstoffverbindungen. Berlin 1890, p. 95.

Osterhout, W. J. V., I. Plants which require Sodium. (Bot. Gaz. 1912.)
Payen, I. Comptes rend. 1856, T. XLIII, p. 769.
Peklo, J., I. Über eine manganspeichernde Meeresdiatomee. (Österr. bot. Zeitschr. 1909, Nr. 8.)
Pellet et Fribourg, I. De l'amine dans les plantes. (Annal. scienc. agron. franc. et étrangère 1907, 3. sér., T. II, p. 323—480.)
Pichard, P., I. Comptes rend. 1898, Bd. CXXVI, p. 530.
Pierre, I. Annales agron. T. II, p. 59.
Pfeffer, W., I. Untersuchungen über die Proteïnkörner usw. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1872, Bd. VIII.)
Pollacci, G., I. Sulla distribuzione del fosforo nei tessuti vegetali. (Malpighia 1894, Vol. VIII, p. 361; Ref. Z. f. wiss. Mikroskopie, Bd. XI, p. 539.)
—, II. Atti dell' instituto bot. dell' Univers. di Pavia 1900, 2. ser., Vol. VI, p. 15.
—, III. Intorno al miglior metodo di ricerca microchimica del fosforo nei tessuti vegetali. (Ebenda 1904, Vol. X, p. 16.)
Raciborski, M., I. Referat über die Arbeit Lilienfelds und Montis. (Bot. Ztg. 1893, Jahrg. 51, 2. Abt., p. 245.)
—, II. Einige Chemomorphosen des Aspergillus niger. (Bull. de l'Acad. d. scienc. de Cracovie. Déc. 1905, p. 766.)
Radlkofer, L., I. Über Tonerdekörper in Pflanzenzellen. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1904, Bd. XXII, p. 216.)
Re, L., I. Annuar. Real. Instit. bot. Roma 1894, Vol. V, p. 38.
Regnard, I. Comptes rend. 1885, Vol. CI, p. 1293.
Richter, O., I. Untersuchungen über das Magnesium und seine Beziehungen zur Pflanze. I. Teil. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1902, Bd. CXI, p. 171.)
—, II. Zur Physiologie der Diatomeen. II. Mitteil. (Denkschr. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1909, Bd. LXXXIV, p. 666; ferner Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1909, Bd. CXVIII, p. 1337.)
—, III. Die Ernährung der Algen. (Intern. Revue d ges. Hydrobiologie u. Hydrographie 1911, Bd. II.)
—, IV. Zur Physiologie der Diatomeen. III. Mitteil. Über die Notwendigkeit des Natriums für braune Meeresdiatomeen. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1909, Bd. CXVIII, Abt. I, p. 1337.)
Robertson, D., I. Bonnemaisonia asparagoides C. Ag., that gave a blue stain to paper. (Proceed. and Transactions of the nat. hist. soc. of Glasgow. Vol. IV [new series] read 1894.)
Rodier, E., I. Sur la formation et la nature des sphérocristaux. (Comptes rend. 1889, T. CVIII, p. 906.)
Rothert, W., I. Das Verhalten der Pflanzen gegenüber dem Aluminium. (Bot. Ztg. 1906, 64. Jg., p. 43.)
Schaarschmidt, J., I. Über die Sphärokristalle von Galanthus nivalis, Echinopsis oxygena und der Euphorbien. (M. N. L. Kolozvár 1884, 8. Jahrg., p. 162—168; Refer. i. Justs bot. Jahrb. 1884, Bd. I, p. 225.)
Schimper, A. F. W., I. Zur Frage nach der Assimilation der Mineralsalze durch die grüne Pflanze. (Flora 1890.)
—, II. Über Kalkoxalatbildung in den Laubblättern. (Bot. Ztg. 1888.)
Scott, F. H., I. On Methods supposed to localize Phosphorus in cells. (Journ. of Physiol. 1897, Vol. XXXV, p. 119.)
Schtscherback, I. Über die Salzausscheidung durch die Blätter von Statice Gmelini. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1919, p. 30.)

Smith, H. G., I. Aluminium the chief inorganic Element in a Proteaceus Tree etc. (The Chem. News 1903, Vol. LXXXVIII, p. 135.)

Solereder, H., I. Systematische Anatomie der Dicotyledonen. Stuttgart 1899.

Soltsien, P., I. Pharm. Ztg. 1906, p. 765.

Szücs, I. Über einige charakteristische Wirkungen des Aluminiumions auf das Protoplasma. (Jahrb. f. wiss. bot. 1913, Bd. LII, p. 269.)

Thoms, G., I. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 1877, p. 2234; ferner Liebig-Kopp, Jahresber. über d. Fortschr. d. Chemie 1879, p. 937 u. Landw. Versuchsstat. 1879, Bd. XXIII, p. 413.

Tunmann, I. Über das Jod und den Nachweis desselben in der Laminaria. (Pharm. Zentralhalle 1907, Bd. XLVIII, p. 505; Refer. i. Jahrb. d. Pharmazie 1907, Jahrg. 42.)

Vater, H., I. Mikroskop. Studien über die Kristallisation des Gipses. Versuche von O. Maschke, mitgeteilt von H. Vater. (Zeitschr. f. Kristallographie 1900, Bd. XXXVIII, 1. Heft.)

Visser, H. L., I. „Nitron" als mikrochem. Reagens. (Chem. Zbl. 1907, Jahrg. 78 [5. Folge, 2. Jahrg.], Bd. I, p. 302.)

Warming, E., I. Aftryk af Videnskabelige Meddelelser fra dan naturhistoriske Forening: Kjobenhavn 1891. „Kiselsyre dannelser hos Podostemonaceae."

Weevers, Th., I. Untersuchungen über die Lokalisation und Funktion des Kaliums in der Pflanze. (Recueil des Traveaux bot. Néerlandais 1911, Vol. VIII, p. 289.)

—, II, Das Vorkommen des Ammoniaks und der Ammonsalze in den Pflanzen. (Extrait du recueil des Traveaux botaniques Néerlandais 1916, Vol. XIII, Livre II, p. 63.)

Wehnert, I. Anatomisch-systematische Untersuchung der Blätter der Gattung Symplocos. (Diss. München 1906.)

Weiß, A. und Wiesner, J., I. Vorläufige Notiz über die direkte Nachweisung des Eisens in den Zellen der Pflanze. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1860, Bd. XL, p. 276—278.)

Wiener, Adele, I. Beitrag zum mikrochem. Nachweis desEisens in der Pflanze, insbesondere des „maskierten". (Biochem. Zeitschr. 1916, Bd. LXXVII, p. 27.)

Wiesner, J., I. Über den mikroskopischen Nachweis der Kohle in ihren verschiedenen Formen usw. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1892, Bd. CI, p. 379.)

Willstätter, R., I. Zur Kenntnis der Zusammensetzung des Chlorophylls. (Liebigs Annal. d. Chemie, Bd. XXXL, p. 57.)

Winogradski, S., I. Über Schwefelbakterien. (Bot. Ztg. 1887, 45. Jahrg.)

—, II. Beitrag zur Morphologie und Physiologie der Bakterien. Heft I. Zur Morphologie und Physiologie der Schwefelbakterien. Leipzig 1888.

Yohuda und Eto, T., I. J. Coll. Agric. Tokyo d. Pharm. Weekbl. 1914, p. 113.

Zacharias, E., I. Die chemische Beschaffenheit von Protoplasma und Zellkern. (Progressus rei bot. 1910, Bd. III, p. 67, Jena.)

Zimmermann, A., I. Die botanische Mikrotechnik. Tübingen 1892.

—, II. Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Pflanzenzelle. Heft II. Tübingen 1891.

B.

Organischer Teil.

a) Fettreihe.

I. Alkohole.

Dulcit, $C_6H_{14}O_6$.

Nachweis. Wenn man nach Borodin (I) Schnitte von Melampyrum nemorosum mit Alkohol behandelt und diesen dann unterm Deckglas langsam verdampfen läßt, so kristallisiert Dulcit in relativ großen prismatischen Kristallen aus, die Salpeter- und Asparaginkristallen ähneln. Sie können aber von diesen unterschieden werden 1. durch ihre Unlöslichkeit in einer gesättigten Dulcitlösung und 2. dadurch, daß sie sich beim Erwärmen auf 190° in eine blasige dunkelbraune Masse umwandeln. Herbarmaterial untersuchte Borodin in der Weise, daß er die zerriebenen Blätter mit verdünntem Alkohol kochte und den filtrierten Extrakt dann verdunsten ließ, oder indem er die Blätter mit sehr wenig Wasser aufweichte und dann wie frische behandelte.

Später hat Monteverde (I) nach derselben Methode Pflanzen auf Dulcit und Mannit untersucht. Überdies wurde Herbarmaterial in zerkleinerten Stücken mit wenig 95proz. Alkohol in der Eprouvette gekocht, der Extrakt auf einem Uhrgläschen verdunsten gelassen und der kristallinische Niederschlag mikroskopisch mit einer gesättigten Dulcit.- resp. Mannitlösung geprüft.

Anstatt Alkohol kann nach meinen Erfahrungen mit Vorteil auch Glyzerin verwendet werden, um Dulcit in Schnitten zum Auskristallisieren zu bringen. Werden nicht zu dünne Schnitte der eben austreibenden Stengel von Evonymus japonicus in einen Tropfen Glyzerin gebracht und mit dem Deckglas bedeckt, so erscheint nach ein bis mehreren Tagen der Dulcit in großen Einzelkristallen oder in klumpigen Drusen (Fig. 36) in der Kambial- oder Markgegend.

Fig. 36.
Kristalle von Dulcit.
a Kristalldruse und Einzelkristalle aus wässeriger Lösung. Vergr. 180.
b Kristalldruse im Stengelrindenparenchym von Evonymus japonicus. Glyzerinpräparat. Vergr. 105.

Eigenschaften. Farblose, glänzende, durchsichtige monokline Säulen (Fig. 36), löslich in Wasser, wenig löslich in Alkohol, unlöslich in Äther.

Vorkommen[1]):

im Kraute von Melampyrum nemorosum, M. pratense, M. silvaticum, in 11 Spezies von Evonymus, in 3 von Celastrus, in einer Schaefferia und in einer aus Madagaskar bezogenen Manna unbekannter Herkunft. In Alectorolophus major und Scrophularia nodosa kommt er entgegen früheren Angaben Eichlers nach Borodin (I) nicht vor.

Der mit dem Dulcit und Mannit isomere Sorbit läßt sich mikrochemisch nur sehr schwer nachweisen (Tunmann II), weshalb ich nicht näher darauf eingehe.

Mannit, $C_6H_{14}O_6$.

Nachweis. Mannit kann aus Gewebeschnitten in ähnlicher Weise zum Auskristallisieren gebracht werden wie der isomere Dulcit. Schnitte durch die Knolle von Apium graveolens werden in einen Tropfen Alkohol gebracht und mit dem Deckglas bedeckt. Der Alkohol verdampft und am Rande bleibt etwas sirupöse Masse, aus der nach 1—2 Tagen die orthorhombischen, zumeist strahlig angeordneten, derben Nadeln oder Säulen (Fig. 37) des Mannits auskristallisieren. Sie sind löslich in Wasser und Anilin, wenig in Alkohol und unlöslich in Äther und Glyzerin.

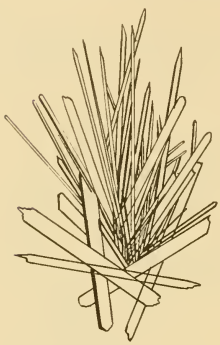


Fig. 37.
Mannitkristalle aus Schnitten durch die Knolle von Apium graveolens. Vergr. 105.

Tunmann (II) empfiehlt bei verschiedenen Objekten die Schnitte unter Deckglas in Alkohol aufzukochen. Er konnte auch Mannit aus der Handelsmanna und den fein zerschnittenen Blättern und der Rinde der Mannaesche in Form von Kristallen sublimieren. Durch Kombination der Alkoholmethode mit der Sublimation erhält man besonders reine Kristalle.

Wenn man die Knospen von Syringa vulgaris im Herbste nach dem Laubfall und im Winter durch einen quer zur Längsachse gerichteten Schnitt halbiert, so treten aus den Gefäßbündeln der Knospenschuppen und der Blütenanlagen nach kurzer Zeit Tröpfchen hervor, die sich im Laufe der nächsten Stunden vergrößern und schließlich oft zu einem einzigen großen, wasserklaren Safttropfen zusammenfließen, der die ganze Schnittfläche kuppenförmig bedeckt. Der Tropfen verwandelt sich beim Eintrocknen in einen schneeweißen, aus Mannitkristallen bestehenden Brei (Molisch I).

Vorkommen.

Ein im Pflanzenreiche ziemlich verbreiteter Körper, besonders in der Familie der Oleaceen und Umbelliferen. In den Blättern und Knospen von Syringa vulgaris

1) Es sei ein für allemal bemerkt, daß die angeführten Vorkommnisse über Pflanzenstoffe, falls nicht die Originalquellen zitiert sind, den zusammenfassenden Werken entlehnt sind: Abderhalden, E., Biochemisches Handlexikon, Berlin 1910/11; Czapek, F., Biochemie der Pflanzen, Jena 1913—21; Husemann-Hilger, die Pflanzenstoffe. 2 Bände. 2. Aufl., Berlin 1882 u. Wehmer, C., die Pflanzenstoffe, Jena 1911.

L., in den Blättern von Fraxinus excelsior L., Apium graveolens L., Aethusa cynapium, Cocos nucifera L., in den Wurzeln von Aconitum Napellus L., Apium graveolens L., Meum athamanticum JACQU., Oenanthe crocata L., Polypodium vulgare L., Daucus Carota L, Scorzonera hispanica L., Triticum repens L.. Cyclamen europaeum L., Punica Granatum L., in der Rinde von Canella alba MURR., Fraxinus excelsior L., F. Ornus L., Phillyrea latifolia L., Ligustrum vulgare L., Jasminum officinale L. und J. nudiflorum LINDL., in den Früchten von Laurus Persea L., von Cactus Opuntia, Ananas sativus SCHULT., in den Kaffeebohnen, in den Oliven, im Safte vom Zuckerrohr, in Laminaria saccharina und zahlreichen anderen Fucoideen, in Agaricus campestris, A. integer, Penicillium glaucum, Lycoperdon ceronicum, ja man kann sagen, daß Mannit bei den höheren Pilzen zu den allgemein verbreiteten Stoffen gehört (ZELLNER I, 91).

II. Säuren.

Die Methoden über den mikrochemischen Nachweis organischer Säuren im Gewebe liegen noch sehr im Argen. Zwar verfügen wir schon über manche, recht gute Proben zum Nachweis einiger organischer Säuren, wenn es gilt, sie in relativ reinen Lösungstropfen aufzufinden und wenn sie in größeren Mengen vorhanden sind, allein in Geweben liegen die Sachen doch anders, da hier gewöhnlich nur verdünnte Lösungen, begleitet von anderen Körpern, vorkommen, die die Reaktion eventuell stören. So geben die von HAUSHOFER (I) und BEHRENS (I) vorgeschlagenen Verfahren z. B. zum Nachweis von Apfelsäure und Zitronensäure bei Untersuchung von Lösungstropfen nicht selten gute Resultate, allein bei der Anwendung von Safttropfen und Geweben der Pflanzen erhält man keine oder zweifelhafte Ergebnisse, weshalb ich die beiden genannten Säuren und andere nicht behandeln werde.

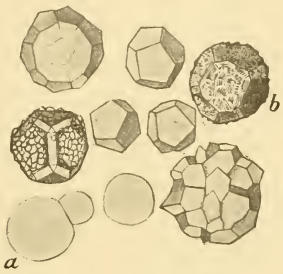


Fig. 38.
Kristalle von Ceroformiat.
Vergr. 180.

TUNMANN (II) hat sich bemüht, auch für Äpfelsäure, Zitronensäure und Sorbinsäure mikrochemische Methoden auszuarbeiten; da aber diese, wie er selbst hervorhebt, noch in manchen Beziehungen der Sicherheit entbehren, so will ich nicht näher darauf eingehen.

Ameisensäure.

Nachweis.

1. Mit Ceronitrat. Der genaueste und sicherste Nachweis der Ameisensäure beruht auf der Fällung als Ceriumformiat. Die salpetersauren Salze der Ceritmetalle (Ce, La, Di) geben nach BEHRENS (I, 21) mit schwach sauren Lösungen von Formiaten sehr charakteristische Kristalle. In dem unbedeckten Versuchstropfen bilden sich nach kurzer Zeit zunächst am Rande scheibenförmige, radialfaserige Aggregate (*a*) mit negativem Polarisationskreuz und dann gegen das Innere zu große, am Objektglas haftende, dem Pentagondodekaeder gleichende Kristalle

(Fig. 38). „Ihr optisches Verhalten und gewöhnlich auch ihre Flächenbeschaffenheit läßt erkennen, daß sie mimetisch gebildet und aus vielen kleinen prismatischen Kristallen zusammengesetzt sind, welche parallel der Prismenachse auslöschen“ (Haushofer I, p. 46). Die Pentagondodekaeder sind zunächst klar und farblos, später werden sie durch Aufwachsen von Kriställchen auf den Flächen trübe und weiß (*b*). Freie Säuren können stören. Freie Salpetersäure und Salzsäure werden durch Magnesiumacetat ausgeschaltet und freie Ameisensäure kann durch Magnesiumoxyd gebunden werden. Durch Erwärmen auf 40 bis 50° wird die Kristallbildung beschleunigt.

Ich habe mich bemüht, diese an und für sich vortreffliche Reaktion auch auf die Pflanze, und zwar auf Schnitte und ausgepreßte Safttropfen, anzuwenden, allein ohne Erfolg. Schnitte durch die Blätter und Stengel von Urtica dioica, Blätter von Abies pectinata und Wurzeln verschiedener Pflanzen geben niemals die erwähnten Pentagondodekaeder, wahrscheinlich weil die Reaktion zu wenig empfindlich ist.

2. Mit Sublimat wies Czapek (I) Ameisensäure mikrochemisch im Wurzelsekret nach. Er gibt zu dem eingeengten Wurzelwasser Sublimat, erwärmt auf 70 bis 80° und erhält einen weißen Niederschlag, der in Salzsäure unlöslich ist und aus kleinen Würfeln besteht, die er für Kalomel hält. Stoklasa und Ernest (I) konnten im Wurzelsekret makrochemisch Ameisensäure nicht nachweisen.

Um Formiat in lebenden Wurzelzellen nachzuweisen, benützt Czapek gleichfalls die Reduktion von Quecksilberchlorid durch Formiate zu Quecksilberchlorür. Diese Reaktion kommt zwar auch der schwefligen, phosphorigen und unterphosphorigen Säure zu, allein diese Säuren werden, da sie in der Pflanze nicht vorkommen, nicht stören. „Die Wurzeln wurden in ganzen Stücken in verdünnter Sublimatlösung (konz. Lösung auf das 5- bis 10fache verdünnt) auf dem Wasserbad 1 bis 2 Stunden lang erhitzt. Sodann wurden sie zuerst mit reinem Wasser, dann mit salzsäurehaltigem Wasser sorgfältig ausgewaschen, um das überschüssige Sublimat und etwa vorhandene, in Salzsäure lösliche Quecksilberniederschläge zu entfernen. Dann wurden sie auf einige Minuten in gelind erwärmte, 1proz. Kalilauge getaucht, und in den formiathaltigen Teilen trat sofort Schwärzung ein.“ Die Wurzelspitzen waren schon makroskopisch tiefschwarz gefärbt. Der eigentliche Sitz der Schwärzung war das Plerom und die Epidermis, hingegen war die Region mit bereits fertig ausgebildeten Gefäßen frei von schwarzem Niederschlag.

Wäre diese Reduktion zu metallischem Quecksilber, wie Czapek meint, wirklich eindeutig, so wäre dieses Verfahren sehr wertvoll. Leider habe ich die Überzeugung gewonnen, daß dies nicht der Fall ist, da andere Substanzen in den Geweben der Pflanze ebenfalls die Reduktion des Sublimats zu metallischem Quecksilber bewirken können. Wenn man z. B. die junge Wurzel oder das Epikotyl des Keimlings von Phaseolus multiflorus $^1/_4$ Stunde in destilliertem Wasser kocht und in viel Wasser wäscht, so müssen die Formiate, da sie alle im Wasser löslich sind, dadurch aus dem Gewebe entfernt werden. Unterwirft man nun diese ameisensäurefreien Objekte dem Czapekschen Verfahren, so tritt die Schwärzung zwar geschwächt, aber doch noch so deutlich

auf, daß schon makroskopisch ein bleigrauer Farbenton wahrzunehmen ist. Viele Elemente erscheinen von schwarzen Quecksilberkörnchen erfüllt. Diese Schwärzung kann nicht von Ameisensäure herrühren. Vielleicht wird sie durch Aldehyde, durch Gerbstoffe, Aminosäuren oder durch andere Substanzen hervorgerufen. So kommen wir leider zu dem Ergebnis, daß wir derzeit kein brauchbares verläßliches Reagens zum direkten mikroskopischen Nachweis der Ameisensäure in der Pflanze besitzen.

Vorkommen.

Es ist von BERGMANN (I) die Meinung ausgesprochen worden, daß die Ameisensäure (und Essigsäure) sich als Bestandteile des Protoplasmas durch das ganze Pflanzenreich verbreitet vorfinden. Ob dem wirklich so ist oder ob nicht vielleicht doch die Ameisensäure erst postmortal infolge der Einwirkung gewisser Reagentien entstanden ist, bleibt für die einzelnen Fälle zu untersuchen. — Als Objekte, die nach verschiedenen Autoren Ameisensäure enthalten, sind zu nennen: Vaucheria, Aethalium septicum, Sempervivum tectorum (Saft), Abies pectinata (Blatt), Ceratonia Siliqua (Frucht), Sapindus saponaria (Frucht), Tamarindus indica (Frucht), Urtica urens und U. dioica (Saft).

Oxalsäure, $C_2H_2O_4+2H_2O$.

Nachweis.

1. Mit Calciumnitrat wird die Oxalsäure und ihre im Wasser löslichen Salze als Calciumoxalat in Form kleiner Kriställchen gefällt, bezüglich welcher man die Fig. 13 und den Text auf p. 50 vergleichen möge.

Wird ein Schnitt durch den Blattstiel von Begonia vitifolia, manicata oder Rex mit Calciumnitrat behandelt, so tritt sofort ein oft schon makroskopisch sichtbarer weißer Niederschlag auf, der aus feinen Körnchen besteht, zwischen denen sich häufig deutliche Kristallformen des Kalkoxalates vorfinden. Diese sind dann nach der auf p. 51 angegebenen Weise weiter zu prüfen.

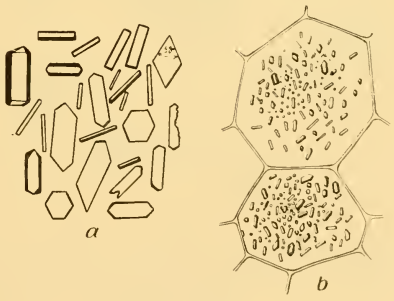


Fig. 39.
Kristalle von Silberoxalat.
a Aus einer Oxalsäurelösung. Vergr. 400.
b Markzellen von Begonia vitifolia mit Silberoxalatkristallen. Vergr. 180.

2. Die Fällung der Oxalsäure als Strontiumoxalat mittels Strontiumnitrat ist gleichfalls für Pflanzenschnitte verwertbar. Die Kriställchen des Strontiumoxalats bestehen aus meist kleinen Pyramiden von quadratischer Basis und aus Kombinationen des Prismas mit der Pyramide.

3. Mit Silbernitrat geben nach BEHRENS (II, 41) neutrale oder mit Essigsäure angesäuerte Lösungen von Oxalsäure oder löslichen Salzen sogleich einen Niederschlag von Silberoxalat. Die Kristalle

sind recht charakteristisch (Fig. 39). Es sind farblose sechsseitige Stäbchen oder Plättchen, ferner Rauten mit einem spitzen Winkel von 58°. Die sechsseitigen Täfelchen gehen aus den rhombischen durch Abstumpfung der spitzen Ecke des Rhombus hervor. Die Auslöschung ist nach BEHRENS in den Rauten diagonal, in den Prismen axial. Ich habe diese Probe brauchbarer gefunden als die Probe 1, da die Kristalle deutlich ausgebildet sind und auch ziemlich lokal entstehen.

Vor kurzem hat MOLISCH (VI) einige neue mikrochemische Proben 4—7 zum Nachweis gelöster Oxalate in der Pflanze eingeführt, über die hier noch kurz berichtet werden soll.

4. Fällung mit gesättigter alkoholischer Natronlauge. Wird ein Tröpfchen einer verdünnten, etwa 3—5proz. Lösung von freier Oxalsäure mit einem großen Tropfen einer gesättigten Natronlaugelösung in 96proz. Alkohol auf dem Objektträger durch das aufgelegte Deckglas vereinigt, so entsteht sofort ein weißer, kristallinischer Niederschlag, bestehend aus Nädelchen, Doppelpinseln, Sternen und Dendriten. So wie die freie Oxalsäure verhalten sich auch die leicht löslichen Oxalate.

Fig. 40.
Begonia vitifolia. Blattstielparenchymzelle mit Sternen von Natronoxalatkristallnadeln. Diese entstehen durch Einwirkung gesättigter Natronlauge in 90%igem Alkohol.

Wird ein Schnitt durch den Blattstiel von Begonia vitifolia oder einer anderen Begonia-Art mit der alkoholischen Natronlauge behandelt, so tritt sofort der kristallinische Niederschlag in den Zellen auf. Das Parenchym erscheint dann mit den erwähnten Kristallen wie besät (Fig. 40).

Diese Reaktion ist nur dann für Oxalsäure eindeutig, wenn der beschriebene Niederschlag sofort oder im Laufe einer Stunde entsteht, da später im Gewebeschnitt lange Nadeln oder Büschel von solchen herausfallen, deren Natur noch nicht aufgeklärt ist.

5. Gesättigte alkoholische Kalilaugelösung gibt gleichfalls mit Oxalsäure oder leicht löslichen Oxalaten einen reichlichen Niederschlag, bestehend aus recht großen Kristallen von Kalioxalat. Federige oder treppenartige Spieße, Rauten, vierkantige Prismen und Aggregate solcher sind vorherrschend.

6. Bleiazetat in 1—20proz. wässeriger Lösung ruft auf einem Schnitt durch den Blattstiel von Begonia vitifolia fast augenblicklich einen weißen Niederschlag von Nädelchen oder Dendriten hervor, die nach einigen Stunden eine all-

mähliche Umlagerung in große, schön ausgebildete rhombische Kristalle, häufig von Briefkouvertform erfahren, die das Licht so stark brechen, daß sie an den Rändern dunkel bis schwarz erscheinen.

7. Bariumchlorid. Eine 5—20proz. Lösung von Chlorbarium mit einem Tröpfchen einer 2proz. Lösung von Kalioxalat zusammengebracht, gibt sofort eine weiße körnige oder kleinkristallinische Fällung, die sich bald in große federige oder sternartige Dendriten umwandelt. Bei Verwendung freier (5proz.) Oxalsäure entsteht nicht sofort ein weißer Niederschlag, aber schon nach einigen Minuten erscheinen zigarrenartige, längsgestrichelte Formen, an den Enden schiefbegrenzte schmale Prismen, Sterne, Warzen, Doppelpinsel und Schollen. Die letzteren sehen infolge ihrer Strichelung so aus, als ob sie angeätzt wären (Fig. 41a).

8. Eisensulfat in 10proz. wässeriger Lösung, versetzt mit wenigen Tropfen Essigsäure, fällt lösliche Oxalate als Ferrooxalat ($C_2O_4Fe + 2H_2O$) in Form von kleinen, blaßgelben, dichroitischen Prismen und Täfelchen (Patschovsky I).

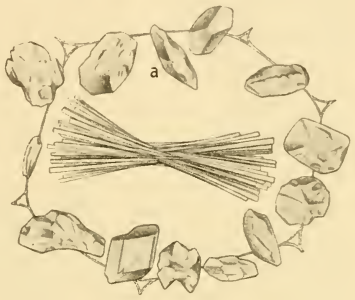


Fig. 41.
Begonia vitifolia. Stengelparenchymzelle mit Kristallen von Bariumoxalat, erhalten mit Bariumchlorid. Vergr. 280.

Vorkommen.

Die Oxalsäure findet sich, wie bereits auf p. 50 dargetan wurde, in der Pflanze als Kalkoxalat ungemein häufig vor. Bei vielen Pflanzen auch in Form leicht löslicher Oxalate, vielleicht auch in Form freier Oxalsäure, obwohl ein Beweis für das Auftreten von freier Oxalsäure bisher nicht erbracht wurde.

Ein Gemenge von Oxalsäure, Essigsäure und Äpfelsäure sollen die Haare von Cicer arietinum ausscheiden, doch geht diese Literaturangabe bis auf De Candolles Pflanzenphysiologie (übersetzt von Röper, 1833, Bd. I, p. 190) zurück und ist meines Wissens in neuerer Zeit nicht überprüft worden.

Lösliche Oxalate hingegen sind nicht selten. Bei Salsola- und Salicornia-Arten kommt es als Natriumsalz, bei Oxalis-, Rumex-, Rheum- und Begonia-Arten, bei Atropa Belladonna und im Wurzelsekret von Hyacinthus orientalis (Czapek I, 341) als Kaliumsalz (Kleesalz) vor.

Ausgerüstet mit den geschilderten Reaktionen hat Molisch (VI) etwa 240 Pflanzenarten auf lösliche Oxalate geprüft und dabei hat sich herausgestellt, daß bei folgenden Familien die untersuchten Arten sehr viel von gelösten Oxalaten enthalten: Polygoneen, Chenopodiaceen, Amarantaceen, Aizoaceen, Begoniaceen, Melastomaceen, Oxalideen, Cannaceen und Marantaceen.

Wie Stahl (I) gezeigt hat, stellt das Kaliumbioxalat einen wirksamen Schutzstoff gegen Tierfraß dar und so wie manche andere Schutzsekrete im allgemeinen eine periphere Lagerung aufweisen, gilt dies nach den Untersuchungen von Giessler (I) auch für die leicht löslichen Oxalate. Sie sind hauptsächlich in der Epidermis oder doch vorwiegend in den peripheren Geweben der vegetativen Organe lokalisiert. —

Weinsäure, $C_4H_6O_6$.

Nachweis.

Mit Calciumazetat geben Lösungen von Weinsäure oder neutralen weinsauren Salzen je nach der Konzentration sogleich oder nach einiger Zeit einen kristallinischen Niederschlag von Calciumtartrat $C_4H_4O_6Ca + 4H_2O$. Nach Haushofer (I, 86) gehören die prächtig ausgebildeten Kristalle dem rhombischen System an und sind von recht verschiedener Gestalt (Fig. 42). Sie sind vorherrschend nach einem Prisma entwickelt, dessen spitzer Kantenwinkel 80° 24′ beträgt. Die Kristallenden werden meist durch ein Doma abgeschlossen. Häufig findet man sechsseitige oder trapezförmige Täfelchen, die aus Rauten durch Abstumpfung entstanden sind. Wenn sich die Kristalle unregelmäßig ausbilden, erhalten sie eine monokline Tracht oder das Aussehen von Rhomboedern. Aus konzentrierten Lösungen entstehen Zerrformen, ähnlich gewissen Kristallformen von Ammoniummagnesiumphosphat.

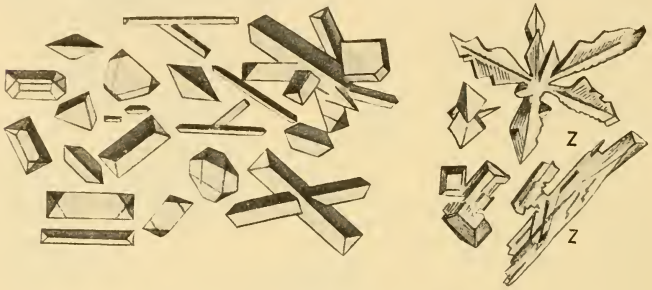


Fig. 42.
Kristalle von Calciumtartrat. Vergr. 400.

Die Calciumtartratkristalle sind wenig im Wasser, sehr leicht in Kalilauge, leicht in verdünnter Essigsäure (2%) und schwer löslich in konzentrierter Essigsäure. Die Auslöschungsrichtung der trapezförmigen Kristalle geht parallel zur Halbierungslinie des spitzen Winkels von 57° 30′.

Die Reaktion ist sehr brauchbar und leistet auch für den histochemischen Nachweis der Weinsäure gute Dienste, vorausgesetzt, daß nicht zu wenig von dieser Säure vorhanden ist. Ein ausgezeichnetes Schulobjekt bietet der Saft der Weinbeere dar. Wird ein Safttropfen mit einem Tropfen einer 20 proz. Calciumacetatlösung vermengt, so treten alsbald die Kristalle von Calciumtartrat in sehr großer Menge auf, desgleichen bei Zusatz von konzentrierter Essigsäure.

Vorkommen.

Die Weinsäure genießt im Pflanzenreiche zweifellos eine weite Verbreitung. Sie wurde makrochemisch nachgewiesen bei: Vitis silvestris L. (Beeren- und Blutungssaft), Früchten von Rhus typhina L. u. R. glabra, Morus, Mahonia aquifolia, Tamarindus, Ananas, Piper nigrum, Cucumis sativus, Solanum Lycopersicum, Knollen von Solanum tuberosum, Helianthus tuberosus und anderen.

Nach Schimper (I, 238) enthält der Zellsaft aller Zellen des Mesophylls, des Nervenparenchyms und der Oberhaut des Weinstockblattes auch gelöste Kalksalze in Form des Malats und des Tartrats. Kristallinisch ausgeschieden findet sich Kalktartrat in den vergilbenden Blättern von Vitis vinifera, V. Labrusca und Ampelopsis vor. Die Kristalle haben hier verschiedene Größe; von kleinen Körnchen (Mesophyll) bis zu großen wohlausgebildeten Formen (Rippen) finden sich viele Übergänge vor.

Schimper erwähnt eine auf der ungleichen Löslichkeit der Kalktartratkristalle in verschieden konzentrierter Essigsäure beruhende Erscheinung: wird ein Schnitt vom Weinstockblatt in mäßig verdünnte Essigsäure (2 %) gebracht, so lösen sich die Kristalle in den Zellen zunächst teilweise auf und bei Steigerung der Konzentration der Essigsäure im Zellsaft beginnen die unvollständig gelösten Kristalle wieder zu wachsen.

Aminosäuren.

Säuren, in denen an Kohlenstoff befindlicher Wasserstoff durch die Aminogruppe ersetzt ist, werden als Aminosäuren bezeichnet. Sie weisen sowohl die Charaktere einer Säure als einer Base auf und geben daher nicht nur mit Säuren, sondern auch mit Basen Salze. Die Aminosäuren spielen beim Abbau und Aufbau der Eiweißkörper während der Reifung und Keimung des Samens und während des Austreibens der Holzgewächse eine sehr wichtige Rolle und häufen sich unter gewissen Umständen in ganz erstaunlichen Mengen an.

In der Pflanze hat man bisher von Aminosäuren der aliphatischen Reihe nachgewiesen: Asparagin, Asparaginsäure, Leucin, Glutamin, Glykokoll (Glycin), Arginin und Lysin. Von diesen sind aber bisher mikrochemisch in der Pflanze verläßlich nachweisbar Asparagin und angeblich auch Leucin.

Von Ruhemann wurde das von ihm zuerst dargestellte Triketo-Hydrindenhydrat oder Ninhidrin als Reagens auf α-Aminosäuren erkannt. Sie liefern selbst in großer Verdünnung beim Kochen mit Ninhidrin eine blaue Färbung. Abderhalden machte von dieser Reaktion bei Prüfung tierischer Flüssigkeiten Gebrauch, indem er 0,1 g Ninhidrin in 30 ccm Wasser löste, 1—2 Tropfen zu 1 ccm der zu prüfenden Flüssigkeit hinzufügte und dann kochte. Glykokoll, Leucin, Glutaminsäure, Asparaginsäure, Phenylamin, Histidin und Aminobuttersäure gaben noch bei sehr großen Verdünnungen eine blaue Färbung.

Loew (I) suchte die Reaktion in die botanische Mikrochemie einzuführen und arbeitete auch bei gewöhnlicher Temperatur. Schnitte durch ausgekeimte Maiskörner gaben die blaue Reaktion schon nach 1—2 Stunden und Schnitte von Lupinenkeimlingen verhalten sich ebenso, aber erst beim Erwärmen. Weitere Untersuchungen müssen zeigen, ob diese Probe der Diagnose auf bestimmte Aminosäuren dienen wird.

Asparagin, $CO_2H{\cdot}CH(NH_2){\cdot}CH_2{\cdot}CONH_2$.

Nachweis.

1. Mit Alkohol. Nach den Untersuchungen von Pfeffer (I, 533) läßt sich Asparagin, wenn es in größeren Mengen, wie dies bei Dunkelkeimlingen der Lupine oder anderer Papilionaceen der Fall ist, angehäuft ist, leicht nachweisen, wenn man nicht allzu dünne Schnitte, deren Zellen zum großen Teil ungeöffnet sind, in ein Uhrschälchen mit absolutem Alkohol einlegt und durch Hin- und Herschwenken das

Eindringen des Alkohols erleichtert, weil sonst zuviel Asparagin aus den Zellen herausdiffundiert. Bei längerer Einwirkung des Alkohols wird das Asparagin in charakteristischen Kristallen gefällt, oft in so großer Zahl, daß die Schnitte und ihre Umgebung mit Asparaginkristallen wie übersät erscheinen. Ist Asparagin in geringer Menge vorhanden, so gelingt der Nachweis in der angegebenen Weise oft nicht mehr, wohl aber, insofern man etwas dickere Schnitte auf den Objektträger bringt und dann Alkohol zutreten läßt.

Eingehende Untersuchungen über die Verbreitung des Asparagins, namentlich in abgeschnittenen austreibenden Zweigen verdanken wir Borodin (II). Er verfährt in der Weise, daß er zahlreiche mikroskopische Schnitte auf dem Objektträger mit Alkohol betupft, mit dem Deckglas bedeckt und das Präparat erst ein paar Stunden später nach vollständigem Verdunsten des Alkohols untersucht. Das Asparagin schießt bei diesen Versuchen in zahlreichen Kristallen von verschiedener Größe und Form, teils an den Schnitten selbst oder in deren Umgebung, teils am Deckglasrande an. Selbstverständlich können bei dieser Methodik auch andere Niederschläge entstehen, man muß daher behufs richtiger Diagnose auf die Eigenschaften der Asparaginkristalle achten.

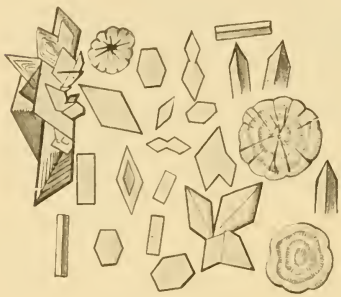


Fig. 43.
Kristalle von Asparagin aus dem Stengel eines etiolierten Keimlings von Lupinus sp. Vergr. 350.

Das Asparagin bildet farblose rhombische Prismen. Es ist in Wasser löslich und wird aus konzentrierten Lösungen durch Alkohol in zahlreichen oft sehr gut ausgebildeten Kristallen abgeschieden. Zu den häufigen Formen gehören rautenförmige Täfelchen mit einem spitzen Winkel von 65° (Behrens I, 96) und einem stumpfen Winkel von 129° 18′ (Zimmermann I, 80); durch diesen lassen sich die oft ähnlichen Kaliumnitratkristalle, bei denen er 99° 44′ beträgt, leicht unterscheiden. Auch Sechsecke treten auf. Die Grundform stellt ein rhombisches Prisma dar, häufig mit sehr charakteristischen hemiedrischen Abstumpfungen der Kanten der Endflächen. Rhombische Sphenoide und einfache oder mehrfache Durchkreuzungszwillinge kommen gleichfalls vor (Fig. 43). Sie zeigen alle schöne Polarisationsfarben, sind optisch positiv, und speziell die Kanten löschen parallel der langen Diagonale aus und zeigen in dieser Richtung Additionsfarben (Emich I, 144). Die Kristalle sind unlöslich in Chloroform, Benzol, ätherischen Ölen und löslich in verdünnten Säuren.

Um nun diese Kristalle von anderen ähnlichen zu unterscheiden, empfiehlt Borodin (II, 805) zwei Methoden. Die erste besteht darin, daß er den Niederschlag auf 100° C erwärmt, wobei sich der Kristall, sein Kristallwasser einbüßend, in ein helles homogenes, stark lichtbrechendes, wie Öl aussehendes Tröpfchen verwandelt, das sich aber in Wasser leicht löst und beim Eintrocknen wieder kristallisiertes Asparagin

liefert. Bei weiterer Erwärmung auf 200° C zersetzt sich das Asparagin und es entstehen braune schäumende Tropfen, die sich in Wasser nicht mehr lösen. Die zweite Methode — gewöhnlich als Borodinsche Methode bezeichnet — beruht darauf, die Kristalle in einer gesättigten Asparaginlösung zu prüfen, in der sich die Asparaginkristalle im Gegensatz zu anderen nicht lösen, vorausgesetzt, daß die Lösung nicht kälter als das zu prüfende Objekt ist. Speziell Salpeterkristalle wird man durch schwefelsaures Diphenylamin von Asparaginkristallen unterscheiden können, wenn man beachtet, daß die ersteren mit Diphenylamin eine blaue Färbung hervorrufen, die letzteren aber nicht (C. O. Müller I).

Schon Th. Hartig (I, 127) hat darauf aufmerksam gemacht, daß ausgepreßter asparaginhaltiger Saft wegen vorhandener anderer Substanzen oft keine Kristalle liefert, und Leitgeb (II, 217) machte gleichfalls die Erfahrung, daß durch Gummi, Zucker, Glyzerin und schleimige Substanzen das Auskristallisieren des Asparagins verhindert werden kann. So erhält man, wenn man Schnitte durch die Wurzelknolle von Dahlia in der gewöhnlichen Weise mit Alkohol behandelt, keine oder nur höchst selten Asparaginkristalle, weil die sich rasch ausscheidenden Inulinsphärite und die anderen viskosen Bestandteile der Knolle die Kristallisation verhindern. Doch erhält man nach Leitgeb auch hier ungemein reichliche Ausscheidung von Asparaginkristallen, wofern etwa 1 cm dicke, frische Querscheiben aus der Knolle in etwa 90proz. Alkohol eingelegt werden. Nach einigen Tagen bedecken sich dann die Schnittflächen mit oft schon makroskopisch sichtbaren Asparaginkristallen. Es bilden sich mehlige Krusten von Inulin und über dieselben emporragend die Kristalle des Asparagins. Ich bemerke jedoch, daß in manchen Fällen, wo Asparagin in sehr großen Mengen auftritt, die Kristallisation auch in ausgepreßten Safttropfen erfolgt. Das ist bei den etiolierten Stengeln von keimenden Lupinen der Fall. Ein aus dem Stengel ausgepreßter Tropfen zeigt am Rande oft nach kaum einer Minute die prachtvoll anschießenden Rauten und Prismen des Asparagins zumeist in erstaunlicher Menge. Wer sich mit dem mikrochemischen Nachweis des Asparagins vertraut machen will, sei besonders auf dieses Objekt aufmerksam gemacht.

2. Bekanntlich gibt Asparagin mit Cuprisulfat eine in charakteristischen Kristallen auftretende blaue Kupferverbindung; aber schon Pfeffer (I, 535) erkannte, daß diese für den mikrochemischen Nachweis des Asparagins in Pflanzenschnitten nicht tauglich ist.

Raciborski (I) hat Benzochinon als mikrochemisches Reagens zum Nachweis von Eiweiß, Pepton, Aminosäuren, Gerbstoffen und anderen Körpern zu verwerten versucht, allein er bemerkt selbst (I, 556), es sei ihm nicht gelungen, bei Anwesenheit von Peptonen und Eiweißstoffen Aminosäuren mikroskopisch sicher nachweisen zu können, da beide die Reaktion (Rotfärbung) geben.

Vorkommen.

Das Asparagin ist im Pflanzenreiche so weit verbreitet, daß man von einer speziellen Aufzählung von Pflanzen füglich absehen kann. Es sei nur im allgemeinen hervorgehoben, daß es besonders als Abbauprodukt der Reserveproteïne bei keimenden Samen, unterirdischen Reservestofforganen, treibenden Knospen und Trieben von Holzgewächsen oft in erstaunlichen Mengen auftritt.

Das Eiweiß baut sich in der Pflanze vornehmlich aus Kohlehydraten und Aminosäuren auf. Als Abbauprodukt der aufgestapelten Eiweißkörper wandern Aminosäuren in die jungen Pflanzenorgane und wenn — wie dies bei Dunkelkulturen der Fall ist — die Assimilation unterbunden ist und daher Zucker und Stärke nicht gebildet werden, so können Aminosäuren wegen mangelnder Kohlehydrate nicht zu Eiweiß restituiert werden, und daher häufen sich gewisse Aminosäuren, besonders Asparagin, oft in kolossaler Menge an. Bei jenen Pflanzen, die viel Zucker oder andere Kohlehydrate enthalten, wie z. B. bei der Küchenzwiebel (Allium Cepa) kommt es auch im Finstern zu reichlicher Eiweißsynthese und daher zu keiner Anhäufung von Asparagin.

Borodin konnte zeigen, daß auch bei austreibenden Dunkelzweigen verschiedener Gehölze und Kräuter sich Asparagin sehr anhäufen kann, daß aber diese Anhäufung unterbleibt, wenn die abgeschnittenen Zweige in Lösungen von Traubenzucker, Rohrzucker oder Mannit eingestellt werden und dem Kohlehydratmangel auf diese Weise vorgebeugt wird.

Zahlreiche zahlenmäßige Belege über Asparaginanhäufung in verschiedenen Pflanzen verdanken wir namentlich Schulze (I, II). Er fand in 10—12 cm langen Keimlingen von Lupinus luteus 20 % der Trockensubstanz an Asparagin. Auch etiolierte Wickenkeimlinge strotzen von Asparagin. — In historischer Beziehung sei erwähnt, daß bereits Th. Hartig (I) durch Behandlung von Keimlingen und jungen Trieben der Holzgewächse mit Alkohol Kristalle erhalten hat, die er „Gleis“ nannte und die sicher zum großen Teile Asparagin waren. Es ist erstaunlich, wie richtig dieser Beobachter, dem die Botanik so viele schöne Entdeckungen verdankt, beobachtet hat und wie treffend er die Bedeutung seines Gleises eingeschätzt hat, wenn er sagt (I, 127): „Dieses, wie es scheint, allgemeine Vorkommen jenes kristallinischen Stoffes in jedem jugendlichen Zellgewebe deutet darauf hin, daß seine Lösung die Form sei, in welcher die stickstoffhaltige, aus Reservestoffen gebildete Pflanzennahrung von Zelle zu Zelle sich fortbewegt.“ Oder an anderer Stelle (I, 129): „Der Gleiskristall ist gewissermaßen der Zucker des Klebermehls.“

Leucin, $C_4H_9CH(NH_2)COOH$.

Sublimation. Borodin (III) hat, um Leucin nachzuweisen, sich der Mikrosublimation bedient. Auf einem Objektträger wird ein Tropfen wässeriger Leucinlösung verdampft, der Niederschlag mit einem Deckgläschen bedeckt und vorsichtig bis auf 170° C erwärmt. Hierauf findet man das Deckglas mit einem weißen Hauche, bestehend aus winzigen, farblosen, doppelbrechenden, undeutlich begrenzten Kristallschüppchen bedeckt. Als Borodin abgeschnittene Sprosse von Paspalum elegans und Dahlia variabilis für mehrere Tage dunkel stellte und dann davon getrocknete Schnitte der Sublimation unterwarf, konnte er in dem entstandenen Hauche Leucinkristalle in Menge feststellen. Der geschilderte Versuch geht mit reinem Leucin, auch wenn man sehr wenig zur Probe benutzt, ausgezeichnet; allein mit Schnitten oder ausgepreßtem Saft gelang mir der Versuch nicht befriedigend. Ich habe Dahlia und andere Pflanzen, in denen Leucin zu erwarten war, auf Leucin durch Mikrosublimation in der von Borodin und in der auf der p. 24 angegebenen Weise geprüft, habe auch einen weißen Hauch bekommen, der aber aus farblosen Tröpfchen oder aus undeutlichen Kriställchen bestand, daß man nicht mit Sicherheit die Diagnose auf Leucin stellen konnte. Ich bin daher der Meinung, daß man die Quantitäten von Leucin, die in Pflanzen gewöhnlich enthalten sind, durch Mikrosublimation derzeit mit Sicherheit nicht nachweisen kann.

Vorkommen.

Das Leucin kommt häufig in Begleitung anderer Aminosäuren, z. B. des Asparagins vor. So findet es sich neben diesem in Keimlingen vieler Papilionaceen: Soja hispida, Vicia sativa, Lupinus-Arten, Phaseolus sp. und Pisum sativum. Keimlinge von Cucurbita Pepo, Chenopodium album, Zuckerrohr, Knospen von Aesculus Hippocastanum, Kartoffelknollen und verschiedene Pilze enthalten gleichfalls mehr oder minder große Mengen von Leucin.

Allantoin, $C_4H_6N_4O_3$

ist das Diureid der Glyoxylsäure und steht in naher Beziehung zur Harnsäure. Es bildet farblose, monokline Prismen und oft sternförmige Drusen. Löslich in Wasser, unlöslich in kaltem Alkohol und Äther.

Allantoin wurde bisher nachgewiesen: in Sprossen von Acer und Platanus, in der Rinde von Aesculus hippocastanum, in Rinde und Blatt von Cordia excelsa, in Weizenkeimen, im Rhizom von Symphytum officinale, Anchusa officinalis und in Keimlingen von Borrago officinalis.

Nachweis.

Wird ein Kriställchen in ein Gemisch von ungesättigtem Furfurol und konzentrierter Salzsäure gebracht, so färbt sich die Lösung wie bei der Harnsäurereaktion gelblich bis schließlich schwarzviolett. Harvey-Gibson (I) versuchte Allantoin im Gewebe des Wurzelstockes von Symphytum officinalis mit Quecksilbernitrat mikrochemisch nachzuweisen und glaubte aus dem entstandenen Niederschlag auf die Gegenwart des Allantoins schließen zu dürfen. Ein solcher Niederschlag ist aber leider nicht eindeutig, da auch andere Stickstoffverbindungen ähnliche Niederschläge geben.

Bessere Resultate ergab das Verfahren Vogls (I). Dickere Schnitte (1—2 mm) werden unter Deckglas mit Alkohol versehen und dieses wird dann mit Paraffin umschlossen. Etwa nach 48 Stunden finden sich am Rande der Schnitte die typischen Kriställchen und Drusen von Allantoin. Diese erscheinen rascher und besser lokalisiert, wenn man dem Alkohol 20% konzentrierte Essigsäure zufügt. Vermißt hat Vogl das Allantoin in den unterirdischen Organen von Symphytum tuberosum, Symphytum cordatum, Cerinthe minor, Lithospermum purpureo-coeruleum, Echium vulgare, Pulmonaria officinalis, Myosotis palustris und Onosma Visianii.

Tryptophan

(Indolaminopropionsäure).

Die Voisenetsche Reaktion, die von Fürth auch für quantitative Tryptophanbestimmungen ausgearbeitet wurde, besteht in einer violetten Färbung tryptophanhältiger Lösungen auf Zusatz von konz. Salzsäure im Überschuß und Spuren von Formaldehyd und Natrium- oder Kaliumnitrit. Die Reaktion deutet die Indolgruppe im Eiweiß an und ist für diese spezifisch. Am besten hat sich eine Dichte von 1·19 für die Salzsäure erwiesen, während eine Dichte von 1·17 die Reaktion bereits schwächt. Schwermetallionen von Eisen oder Kupfer stören, auch ist es gut, das Reagens nach längstens 2stündigem Gebrauch zu erneuern.

Die Schwierigkeiten, die sich der mikrochemischen Anwendung dieser Reaktion anfangs entgegen stellten, hat Kretz (I) überwunden;

insbesondere war es das unter dem Einfluß der konz. Salzsäure eintretende Zerfließen der Gewebe in einen strukturlosen Brei, das die Beurteilung der Reaktion und ihrer Lokalisation erschwerte. Dem Zerfließen der Gewebe konnte leicht dadurch vorgebeugt werden, daß KRETZ die Präparate durch ein Kieselsäureskelett widerstandsfähig machte.

Zu diesem Zwecke bringt man die Schnitte in eine wässerige Lösung von Natriumsilikat und überträgt sie dann in konz. Salzsäure. Die dadurch in Freiheit gesetzte Kieselsäure fällt als Gel aus, hüllt den Schnitt ein und verhindert dadurch das Zerfließen des Gewebes. Mit Hilfe dieser geschilderten Reaktion konnte die außerordentlich weite Verbreitung des Tryptophans bei Krypto- und Phanerogamen nachgewiesen werden. Zumal in embryonalen Geweben, bei Dauergeweben hauptsächlich in eiweißleitenden Elementen der Gefäßbündel und Speichergeweben, während es im Grund- und Hautgewebe im allgemeinen vermißt wurde.

Tryptophan war in allen eiweißartigen Zellbestandteilen nachweisbar: im Kern, Kernkörperchen, Aleuron, Eiweißkristallen und in der Grundlage der Chlorophyllkörner.

III. Fette.

Nachweis.

Die Fette der Pflanzen bestehen aus den Glyzerinestern der Säuren $C_nH_{2n}O_2$ und $C_nH_{2n-2}O_2$ und sind Neutralfette, denn von freien flüchtigen und nicht flüchtigen Fettsäuren finden sich nur Spuren vor. Bei den natürlichen Fetten sind in dem dreiwertigen Alkohol Glyzerin alle drei Hydroxyle durch Fettsäureradikale ersetzt. Die Fette sind durchwegs leichter als Wasser, fest oder flüssig, unlöslich im kalten oder heißen Wasser, wenig löslich in Alkohol (mit Ausnahme des Rizinusöls), dagegen leicht löslich in Äther, Petroläther, Schwefelkohlenstoff, Benzol und Aceton. Durch ihre Unlöslichkeit in absolutem Alkohol und Eisessig unterscheiden sie sich in der Regel von den ätherischen Ölen (vgl. p. 166), da diese sich darin lösen. Die flüssigen Fette, auch fette Öle genannt, erzeugen auf Papier einen dauernden durchsichtigen Fleck, einen sogenannten Fettfleck und geben bei starker Erhitzung Akrolein, das an seinem charakteristischen Geruch erkannt werden kann.

Die verschiedenen Fettsäuren, die die Fette zusammensetzen, können derzeit nicht mikrochemisch nachgewiesen und unterschieden werden, daher sind wir gezwungen, allgemeine Eigenschaften der Fette heranzuziehen, um die Fettnatur eines Körpers in der Zelle festzustellen.

1. Alkanninlösung (s. p. 21). Werden fetthaltige Schnitte auf 1 bis 24 Stunden in diese Lösung eingelegt, so färben sich alle Fetttropfen intensiv rot, weil das Öl den Farbstoff speichert. Beim Erwärmen erfolgt die Färbung rascher. Leider speichern auch ätherische Öle und Harze den Farbstoff, die Reaktion ist daher selbstverständlich nicht eindeutig.

2. Osmiumsäure = Überosmiumsäure = OsO_4. Eine 0,1 bis 1proz. wässerige Lösung wird durch die meisten Fette zu metallischem Osmium reduziert und färbt infolgedessen diese braun bis schwarz. Wasserstoffsuperoxyd hebt die Braunfärbung rasch wieder auf. Leider ist auch diese Reaktion nicht eindeutig, da sie auch von vielen Gerbstoffen, ätherischen Ölen und wahrscheinlich auch noch von anderen

Körpern veranlaßt wird. Gerbstoffe kann man nach Zimmermann (I, 70) vorher durch Auskochen im Wasser extrahieren und ätherische Öle durch Erhitzen auf 130° entfernen. Außerdem geben nicht einmal alle Fette die Probe, ferner nicht Palmitin-, Stearinsäure, ihre Triglyzeride und einige andere Fettsäuren.

3. Sudan III wurde zuerst in der medizinischen und zoologischen Mikrotechnik und später von Buscalioni (I) für botanisch-mikrochemische Zwecke empfohlen. Nach diesem Forscher färben sich Wachs, Cutin, Suberin, Fette und Harze intensiv rot. Kroemer (I) rühmt die Verwendbarkeit dieses Farbstoffes für den Nachweis des Korkstoffes. Er verwendet eine Lösung von 0,01 g Sudan III in 5 g Alkohol von 96% und 5 ccm Glyzerin.

Nach meinen Erfahrungen ist Sudan III eines der besten Färbemittel für Fette und leistet, obwohl es auch durch Harze gespeichert wird, ausgezeichnete Dienste. Die Schnitte werden in die erwähnte Lösung gebracht, je nach Bedarf einige Zeit darin belassen und behufs Aufbewahrung in Glyzerin eingelegt.

Cyanin (Chinolinblau), das gleichfalls als Färbemittel für Fette empfohlen wird, kann sich mit Sudan III nicht messen, weil es aus der Lösung leicht ausfällt, die Präparate trübt und für Dauerpräparate nicht gut haltbar ist.

Von anderen Farbstoffen, die noch zur Fettfärbung herangezogen werden können, seien erwähnt: Chlorophyll, Scharlach-R., Buttergelb, Fettblau, Meyersgelb, Brasilin und Alizarin.

4. Verseifung. Eines der wichtigsten Kennzeichen der Fette, das sie von den meisten ätherischen Ölen unterscheidet, ist ihre Verseifbarkeit mit Alkalien. Diese Eigenschaft läßt sich, wie Molisch (II, 10) gezeigt hat, auch mikroskopisch verwerten. Er verwendet zur Verseifung ein Gemisch von gleichen Volumteilen wässeriger konzentrierter Kalilauge und ebensolcher Ammoniaklösung. Der zu untersuchende Schnitt wird auf dem Objektträger in einen Tropfen dieser Flüssigkeit hineingelegt, mit einem Deckglas bedeckt und dann längere Zeit, ein bis mehrere Tage, im feuchten Raume sich selbst überlassen. Daß die Schnitte lange Zeit der Einwirkung der Lauge ausgesetzt bleiben müssen, betont mit Recht auch Tunmann (II, 13, d. Sep.).

Die Öltropfen verwandeln sich oft in kristallinische, aus Kristallnadeln bestehende Massen (Seifen). Nicht selten sieht es so aus, als ob der Tropfen keine Veränderung erlitten hätte, allein bei Prüfung im Polarisationsmikroskop ergibt sich, daß er sich inzwischen in einen Sphärokristall umgewandelt hat. Schnitte durch die Kotyledonen von Cucurbita Pepo, Helianthus annuus oder durch das Endosperm von Coffea arabica geben ausgezeichnete Resultate. Die großen Fetttropfen, die aus dem Rande der Schnitte hervorquellen, beginnen sich im Reagenstropfen von der Peripherie aus allmählich zu trüben und nach und nach in eine kristallinische Masse zu verwandeln (Fig. 44). Die Ölmassen in den Endospermzellen der Kaffeebohne erscheinen nach etwa 3—5 Tagen fast ganz in Kristallnadeln der entsprechenden Seife verwandelt (Fig. 44). Die Umwandlung der Fettsäuren in kristallinische Seifen gelingt auf diese Weise im Mikroskop fast bei jedem Fett und wenn sie eintritt, so spricht dies sehr für Fett. Indes wird man sich nie mit einem Kennzeichen begnügen, sondern möglichst viele heran-

ziehen, um zu einem relativ sicheren Resultat zu gelangen. Dieselbe Methode haben später Hartwich und Uhlmann (I) für viele Fette, jedoch nicht in der Pflanze, ausprobiert und dabei die Angaben von Molisch (II, 10) bestätigt. Sie verwenden eine gesättigte Kalilauge, vermischt mit dem gleichen Volumen einer 20proz. Ammoniaklösung. Die Lauge wird für manche Versuche zweckmäßig verdünnt: mit dem gleichen, mit 2 und mit 3 Volumen Wasser. Je nach dem Grade der Verdünnung entstehen bald Nadeln, bald Sphärite.

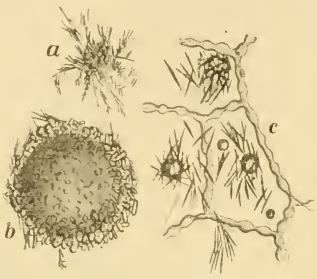


Fig. 44.
Verseifung von Fetttropfen mit Kalilauge-Ammoniak.
a und *b* von Cucurbita Pepo. *a* kleiner Fetttropfen in einen Kristallbrei verwandelt. Vergr. 180.
b großer Tropfen an der Peripherie in Kristalle umgewandelt. Vergr. 80.
c Fetttropfen im Endosperm von Coffea arabica in Kristalle übergehend. Vergr. 180.

Fig. 45.
Fettkristallnadeln in den Endospermzellen von Elaeis guianensis L. Dazwischen Aleuronkörner mit Eiweißkristallen *a*. Vergr. 180.

Vorkommen.

Die Fette sind im Pflanzenreiche außerordentlich verbreitet, in Spuren wohl in den meisten Zellen vorhanden; entweder flüssig oder fest, manchmal sogar auskristallisiert (Fig. 45). In großen Mengen werden sie als Reservestoffe in den Samen (bei Cucurbitaceen, Lineen, Cruciferen, Urticaceen, Papaveraceen, Amygdaleen, Juglandeen usw.), seltener im Fruchtfleisch (Olea europaca) oder in Rhizomen (Aspidium filix mas) und häufig zur Winterszeit in Baumrinden gespeichert. In mehr oder minder großen Tropfen (Elaiosomen) finden sich Fette in den Perldrüsen verschiedener Pflanzen und ferner nach Sernander (I) in den drüsenartigen Anhängseln vieler myrmekochorer Samen. Hier bilden sie die Lockspeise der körnersammelnden Ameisen.

Auf der Frucht von Malus coriarius wird flüssiges Fett in kleinen klaren Tröpfchen so reichlich ausgeschieden, daß der Apfel sich fettig anfühlt (Molisch VIII).

Verschiedene Teile mancher Orchideenblüten (Paphiopedilma und Cypripedium) zeigen einen fettigen Glanz, so daß sie wie poliert erscheinen. Knoll (I) hat gezeigt, daß es sich hier auch um ausgeschiedenes flüssiges Fett handelt.

Von weiteren speziellen Fettvorkommnissen im Plasma, in den Chromatophoren usw. wird später noch die Rede sein.

Myelinformen. Bei der Verseifung von Fetten (Molisch II, 10) entstehen mitunter eigentümliche absonderliche Formen, die man als Myelinformen bezeichnet. Solche sind seit langer Zeit durch die Untersuchungen von Virchow (I), Bendke (I), Brücke (I) und anderen bekannt. „Aus der Schnittfläche von Nerven quellen bei Zusatz von Wasser aus dem Nerveninhalt kugelige, eiförmige und unregelmäßig geformte Gebilde hervor, welche nach Virchow als Formen einer besonderen Substanz ‚Myelin' (= Nervenmark) mit dem Namen Myelinformen bezeichnet wurden. Der Name ‚Myelin' für eine chemische Substanz ist jedoch längst aufgegeben." (Zitiert nach Nestler [IV, 480]). Wenn man zu reiner Ölsäure Ammoniak zufließen läßt, erhält man nach Neubauer gleichfalls schöne Myelingestalten. „Es zeigen sich da die wunderbarsten Formen, deren allmähliche Entwicklung unter dem Mikroskope zu den interessantesten Erscheinungen gehört und lange Zeit den Beobachter fesseln kann. Wendet man statt Ölsäure ein an Ölsäure reiches Neutralfett, Olivenöl, Mandelöl usw. an, so entstehen, in gleicher Weise mit Ammon behandelt, dieselben Formen, allein viel langsamer; auch bleiben sie viel kleiner" (Virchow I).

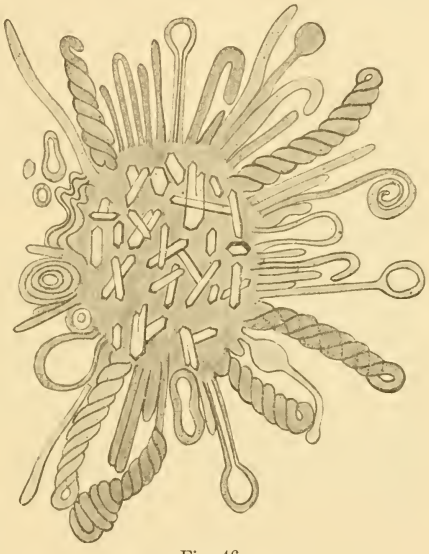


Fig. 46.
Myelinformen und Kristalle (von Capsaicin?), entstanden aus einem Sekrettröpfchen einer Drüse der Fruchtscheidewand von Capsicum annuum L. nach Zusatz von Ammoniak. Vergr. etwa 100. Nach Nestler (VI).

Werden Cholesterinkristalle in Seifenwasser oder dem Abdampfrückstand vom alkoholischen Extrakt des gekochten Eidotters in reinem Wasser behandelt, so entstehen Myelinformen (Beneke I). Desgleichen wenn man lufttrockene Lezithine mit Wasser in Berührung bringt (Czapek III, I. Bd., 853). Vgl. auch Czapek (IV) und Reinitzer (I).

Myelinformen von seltener Schönheit erhielt Nestler (IV, 478), als er das Sekret von dem Drüsengewebe der Fruchtscheidewände von Capsicum, das den Sitz des brennendscharfen Capsaicins darstellt, unterm Deckglas mit (10proz.) Ammoniak behandelte. „In der homogenen, farblosen, ölartigen Masse entstehen durch die Einwirkung des Ammoniaks sofort zahlreiche, mikroskopisch kleine Kügelchen; gleichzeitig

sieht man am Rande des Öltropfens allmählich die sonderbarsten Gebilde hervortreten, vor allem dichtgedrängt homogene Fäden, die sehr lang werden können; andere, dickere Fäden zeigen genau in der Mitte einen Kanal; wieder andere sind am Ende spiralig eingerollt oder enden mit einer kompakten oder hohlen Kugel" (Fig. 46). Ähnliches konnte NESTLER beobachten, als er das Fett der Papua-Macis (Myristica argentea Warb.) mit Ammoniak versetzte, hingegen entstanden keine Myelinbildungen, als er das Fett von Cocos nucifera und Elaeis guianensis in gleicher Weise behandelte. Nach NESTLER besteht das Paprikasekret vorherrschend aus einem vielleicht an Ölsäure reichen Fett, das bei Zusatz von Ammoniak die Myelinformen veranlaßt.

Schöne Myelinformen erhält man auch, wenn man die Fettdrüsenhaare gewisser Labiaten z. B. der Salvia glutinosa mit einem Alkali behandelt.

Eine treffliche Zusammenstellung über unsere derzeitigen Kenntnisse der Myelinformen nebst eigenen Untersuchungen findet man bei SENFT (II). Er erzeugte ähnliche Myelinformen, wie sie NESTLER mit dem Drüsensekret der Paprikafrucht erhielt, mit den Fetttropfen aus dem Samenfleisch von Ginkgo biloba. Aus SENFTS Untersuchungen geht folgendes hervor:

Das Vermögen, Myelinformen zu bilden, kommt unter gewissen Umständen den Lezithinen, Cholesterinen und gewissen Fettsäuren zu. Neben der Ölsäure vermag auch die Leinöl-, Eruka-, Kaprin- und Kaprylsäure Myelingestalten zu erzeugen. Bei den Lezithinen genügt schon ein Zusatz von Wasser zur Bildung von Myelinformen, bei den Phytosterinen (Cholesterinen) aber ist hierfür Ölsäure oder eine andere Fettsäure und Alkali notwendig. Die Lezithine stellen sehr komplexe Körper dar, die neben Glyzerinphosphorsäure Cholin und Fettsäuren enthalten. Da aber weder Cholin noch die Phosphorsäure mit Wasser oder Alkalien allein Myelingestalten ergibt und da auch die Phytosterine nur bei Gegenwart von Fettsäuren und Alkali die Fähigkeit hierzu besitzen, so folgt, daß die Entstehung von Myelinformen an die Gegenwart von Fettsäuren geknüpft ist.

Die Myelinformbildung ist als ein Verseifungsprozeß anzusehen, die Formen zeigen Doppelbrechung und werden von ADAMI und ASCHOFF als flüssige Kristalle aufgefaßt. — —

Es ist begreiflich, daß innerhalb der Zelle oder im Gewebe schon wegen Raummangels die Myelinbildung häufig nicht zustande kommt. In solchen Fällen kann man, wie TUNMANN (II, 14 d. Sep.) gefunden hat, dennoch zum Ziele kommen, wenn man die Fette zuerst sublimiert. Samenschnitte von Elaeis, Cocos, Areca, Illicium, ferner Secale cornutum geben Sublimate von Tropfen, in denen sich Fettsäurekristalle ausscheiden. Mit diesem gewissermaßen gereinigten Fett, insbesondere mit den Tropfen konnte TUNMANN die Myelinbildung stets leicht hervorrufen.

Jüngst beobachtete MOLISCH (VII) einen Fall, wo sich Myeline in der Pflanze von selbst bilden. Die Blütenknospen von Aconitum variegatum stellen einen sogenannten Wasserkelch dar, wie er bisher nur für mehrere tropische Pflanzen bekannt war. Drückt man sanft auf die noch geschlossene Knospe, so tritt ein Flüssigkeitstropfen hervor und in diesem findet man bei der erwähnten Aconitum-Art fertiggebildete, verschieden gestaltete und oft herrlich geschichtete Myelinformen.

IV. Wachs.

Auf vielen Pflanzenorganen, namentlich Blättern, Stengeln und Früchten findet man nicht selten einen weißen oder weißlichgrauen Überzug, der sich leicht wegwischen läßt und die betreffenden Organe unbenetzbar macht. An den Pflaumenfrüchten, Weinbeeren und Kohlblättern ist dieser „Reif" deutlich ausgebildet und wird einer Gepflogenheit entsprechend als Wachs oder Wachsüberzug bezeichnet, obwohl er in vielen Fällen nicht mit Wachs in chemischem Sinne, sondern mit echten Fetten übereinstimmt.

Über die morphologischen Verhältnisse der Wachsüberzüge hat uns DE BARY (I und II) genau orientiert. Er unterscheidet vier Hauptformen: 1. Gehäufte Überzüge, 2. einfache Körnchenüberzüge, 3. Stäbchenüberzüge und 4. Krusten.

Körnchenüberzüge in einfacher Lage finden sich bei den erwachsenen Blättern von Tulipa, Echeveria pumila, Rot- und Weißkohl usw. Körnchen in Haufen treten auf bei Ricinus communis, der Blattunterseite von Abies pectinata, Stäbchen in Haufen bei den Blättern von Eucalyptus globulus, Secale cereale, Elymus arenarius usw.

Stäbchen: bei den Blättern von Musa sp., Heliconia farinosa, Strelitzia ovata, Stengel von Saccharum officinarum usw. Als ein ausgezeichnetes Objekt für Stäbchenüberzüge empfehle ich den Halm vom Schilfrohr Phragmites communis. Knapp unterhalb der Knoten erscheint die Epidermis auf eine kurze Strecke nach abwärts von einem Stäbchenüberzug meist bereift (Fig. 47).

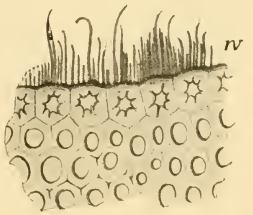


Fig. 47.
Wachsstäbchenüberzug von Phragmites communis, Stück eines Querschnittes des Halms: Die Epidermis bedeckt mit Wachsstäbchen *w*. Vergr. 350.

Krusten sind von verschiedener Dicke. Etwa 1 μ dick am Laube von Thuja orientalis und Thuja occidentalis, Sempervivum-Arten und auf dem Stengel fleischiger Euphorbien, 15 bis 19 μ dick auf den Blättern von Corypha (Copernicia) cerifera, bis 79 μ dick bei Euphorbia canariensis, bis 5 mm dick am Stamme von Ceroxylon und Klopstockia usw.

Alle diese Wachsmassen treten in der Membran auf und werden aus dieser auf der Kutikula ausgeschieden. Beim Erwärmen der Präparate unterm Deckglas bis zum Sieden tritt das Wachs in Form von Tröpfchen aus der Membran heraus.

WIESNER (I und II) zeigte, daß die geformten Wachsüberzüge im polarisierten Lichte aufleuchten, kristallinische oder kristallisierte Effloreszenzen oder Krusten darstellen, bei der trockenen Destillation die Akroleinreaktion geben und aus Glyzeriden, freien Fettsäuren, wachsartigen und vielleicht noch anderen Körpern bestehen. Glyzeride scheinen den Hauptbestandteil der Wachsüberzüge zu bilden. Über die genauere chemische Zusamensetzung der Pflanzenwachse vergleiche man die Literaturzusammenstellung bei CZAPEK (III, I. Bd., p. 11 ff).

Um die Kristalisierbarkeit des „Reifes" z. B. von Kohl- oder Alliumblättern zu erweisen, verfährt man nach WIESNER (I, 231) in

folgender Weise. Die abgezogene Epidermis mit dem Wachsüberzug wird mit einem Deckglas bedeckt und Äther von der Seite beigefügt. Die Körnchen werden gelöst und erscheinen nach dem Verdampfen des Äthers sofort teils als Nadeln, teils als Aggregate tafelförmiger oder nadelartiger Kristalle. Sehr schöne Kristalle bekam ich auf diese Weise bei Echeveria glauca (Fig. 48). Tunmann (III) konnte die verschiedensten Wachsüberzüge auch sublimieren. Er erhielt Stäbchen, Rosetten, Sphärokristalle usw. Die Wachskörper sind im Wasser unlöslich, schmelzen, da ihr Schmelzpunkt häufig unter 100° liegt, in heißem Wasser zu Tropfen zusammen, lösen sich in kaltem Alkohol nicht oder sehr schwer, in heißem aber meist leicht, in Äther sind sie gleichfalls meistens leicht löslich.

Wachs im Zellinnern. Das Vorkommen von Wachs auf der Epidermis ist das gewöhnliche, es gibt aber auch Fälle, wo das Wachs im Innern der Zelle auftritt, z. B. bei den Früchten mehrerer Rhusarten, den Früchten von Myristica Ocuba, im Milchsafte von Ficus ceriflua und im Stengelparenchym mehrerer Balanophoreen (Mikosch).

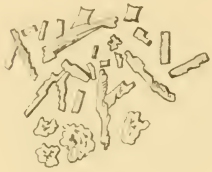


Fig. 48.
Fettkristalle aus ätherischer Lösung vom „Wachsüberzug" der Echeveria glauca. Vergr. 180.

Nach den Untersuchungen von A. Meyer (I) sind die Zellen in den Früchten von Rhusarten in der Mittelschichte der äußeren Fruchtschale mit klarem oder nur äußerst schwachkörnigem Wachse erfüllt. Bei Rhus vernicifera wird das Wachs nach Moebius (I) als dicker Überzug der Membran nach dem Zellumen ausgeschieden. Die Zellen bekommen hierdurch das Aussehen von Steinzellen.

Im Stengelparenchym von Balanophoraarten kommt ein Wachs in so großen Mengen vor, daß man die Pflanze direkt als Kerze verwenden kann. Vor kurzem hat Simon (I) die Zusammensetzung dieses als Balanophorin bezeichneten Körpers zu studieren begonnen und darin vorläufig Palmitinsäure nachgewiesen.

Löst man aus einem Schnitt von Balanophora das Wachs unterm Deckglas mit Äther heraus, so kristallisiert es am Deckglasrande in Form von Nadeln, die sich zu Garben oder Sternen zusammenfügen, oder in Form von sphäritischen oder blumenkohlartigen Massen alsbald beim Verdampfen des Äthers.

V. Trichomsekrete.

Die von den Haaren verschiedener Farnblätter abgesonderten, mehlartigen Sekrete sind vorläufig noch nicht so genau bekannt, daß wir sie einer bestimmten Stoffgruppe zuweisen können. Die von mancher Seite geäußerte Vermutung, daß wir es hier wie bei den Wachsüberzügen auch mit echten Fetten zu tun haben, hat sich als unrichtig erwiesen. — Auch das von den Blättern verschiedener Primeln durch Drüsenhaare abgeschiedene giftige Sekret ist, obwohl es rein und kristallisiert dargestellt worden ist, seiner chemischen Natur nach unbekannt. Dasselbe gilt auch vom hautreizenden Sekret verschiedener Cypripedien.

Da aber alle diese Sekrete Produkte von Haaren, also der Epidermis sind, so mögen sie provisorisch ihren Anschluß an die Fette finden und hier behandelt werden, ohne daß damit über ihren chemischen Charakter etwas ausgesagt sein soll.

a) Primelgift.

Nach den eingehenden Untersuchungen Nestlers (I) scheiden viele Primeln durch die die oberirdischen Organe bedeckenden Drüsenhaare ein Sekret ab, das auf der Haut des Menschen eine mehr oder minder heftige Entzündung (Dermatitis) hervorrufen kann. Es gehören hierzu: Primula obconica Hance, P. sinensis Lindl., P. Sieboldii Morren, P. cortusoides L., P. mollis Hook. und P. Arendsii Pax.

Die das giftige Sekret abscheidenden mehrzelligen Köpfchenhaare (Fig. 49) finden sich bei Primula obconica besonders an der Unterseite der Laubblätter und an den Blütenstielen vor. Diese Drüsenhaare bestehen aus einem mehrzelligen Stiel und einer als Köpfchen ausgebildeten Endzelle. Zwischen der Kutikula und der Zellmembran des Köpfchens bildet sich ein gelblichgrünes oder braunes Sekret, das sich nach dem Platzen der Kutikula nach unten über die Stielzellen ergießt. Man kann das Sekret leicht auf den Objektträger übertragen, wenn man ihn auf einen Blatt- oder Blütenstiel sanft andrückt und hin und her fährt. Unterm Mikroskop lassen sich dann leicht Tropfen oder größere Massen des Drüsensekretes beobachten. Wie Nestler (I, 8) zeigte, treten darin alsbald kleinere oder größere mehr oder weniger gelb erscheinende monokline Kristalle in Form von Nadeln, Prismen oder verschiedenen Kombinationen auf (Fig. 49). Nach 3 Tagen beginnen sich die freiliegenden, vom Sekrete unbedeckten Kristalle zu verflüchtigen und nach 4 Tagen verschwinden sie völlig. Wird ein Laubblatt von Primula obconica mit seinem Stiele über ein Uhrglas gehalten und mit Äther so übergossen, daß die Flüssigkeit nur flüchtig die Oberfläche des Blattes berührt, so löst sich das Sekret und nach dem Verdunsten des Äthers sieht man in dem Uhrglase zahlreiche gelbe Kristalle, die sich leicht sublimieren und so in größeren Mengen gewinnen lassen. Diese Kristalle, die nach Nestler das eigentliche Hautgift darstellen und die mit den Kristallen des Sekretes identisch sind, lösen sich in abs. Alkohol, Äther, Chloroform, Terpentinöl, Benzol, Eis-

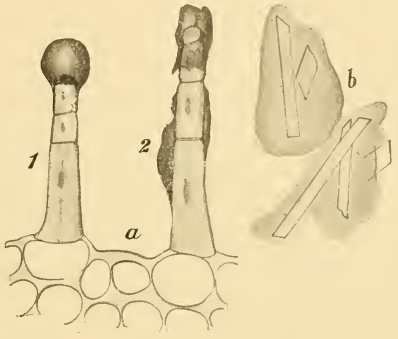


Fig. 49.
Primula obconica.
a Stück eines Querschnittes des Blattstiels mit 2 Drüsenhaaren; *1* junges Haar an der Spitze mit dem giftigen Sekret, *2* älteres Haar mit herabfließendem Sekret.
b Sekretmassen, in denen das Primelgift auskristallisiert. Vergr. bei *a* und *b* 180.

essig, verschwinden in Schwefelsäure, Salzsäure und Kalilauge. Eine von Nestler (II, 473) beobachtete Reaktion erscheint besonders auffallend. Wenn man von dem mit Äther erhaltenen Rückstand des Sekretes etwas auf einen Objektträger überträgt, mit dem Deckglas bedeckt und konz. Schwefelsäure hinzutreten läßt, „so werden die homogene Grundsubstanz und die gelben Kristalle sofort gelöst, und zwar mit grünlichgelber Farbe, die gewöhnlich nach ungefähr 5 Minuten (wie bei P. mollis) in smaragdgrün bis dunkelgrün übergeht; nach 10 Minuten, mitunter erst nach $^1/_2$ bis 1 Stunde, sieht man an manchen Stellen zahlreiche feine Nadeln von blauer Farbe", die sich allmählich entfärben und dann verschwinden.

Ob diese Reaktion für das Primelgift charakteristisch ist und für alle hautreizenden Primeln gilt, bleibt noch zu untersuchen, um so mehr, als bei Pr. obconica die Reaktion nicht immer gelang. Nicht alle Primeln wirken hautreizend. Primula officinalis L., Pr. Auricula L., Pr. farinosa und andere wirken nicht giftig. Unter diesen nicht hautreizend wirkenden gibt es aber einige, die mit ihren Laubblättern und Blütenstengeln ein Sekret in Form eines weißen mehlartigen Überzuges erzeugen: Primula petiolaris var. pulverulenta Hook. und Pr. verticillata Forsk. Auch hier sind es Drüsenhaare, die das Sekret abscheiden. Ihre Köpfchenzelle ist mit zahlreichen kleinen Stäbchen und Körnchen bedeckt, die in Äther und Alkohol sehr leicht löslich sind und nach dem Verdunsten des Lösungsmittels wieder in Form von Nadeln oder dendritischen Nadelaggregaten herausfallen.

Brunswik ist es im Anschluß an die Entdeckung von H. Müller (I), daß der Hauptbestandteil des Primelmehlstaubes ein Flavon von der Zusammensetzung $C_{15}H_{10}O_2$ ist, gelungen, auch den mikrochemischen Nachweis nach Klein (I) dafür zu liefern.

a) Dieses Flavon ist leicht löslich in Äther, ganz im Gegensatz zu seinen Abkömmlingen, deren Unlöslichkeit in Äther G. Klein in der allgemeinen Charakteristik der Flavonen hervorhebt.

b) Das Flavon läßt sich leicht in heißer konz. Salzsäure in charakteristischen Kristallen wieder umkristallisieren. Wenn man etwas Mehlstaub unter Deckglas mit konz. Salzsäure versetzt, so kristallisiert er in feinen Nadeln und Nadelbüscheln von echtem Flavonaussehen um. Dieses Umkristallisieren gelingt besonders leicht in heißer Salzsäure.

c) Primelstaub liefert bei der Mikrosublimation brauchbare Flavon-Sublimate in Form von ranken- und federartigen Kristallen.

d) Aus der alkoholischen Lösung fällt Jodjodkalium blaue Nadelbüschel oder nadelförmige Jodflavonmischkristalle, die in 50%iger Salzsäure unlöslich bleiben. Auch fertige Flavonkristalle adsorbieren Jod stark bis zur Schwarzfärbung und halten es zähe fest. Alle diese Reaktionen lassen sich leicht mit den aus dem Primelstaub gewonnenen Sublimaten ausführen.

e) Endlich sei erwähnt, daß das Flavon in konz. Salzsäure blau fluoresziert und daß der Primelstaub die gleiche Probe gibt.

Brunswik hat die unter a—e geschilderten Reaktionen zur Ermittlung der Verbreitung der Flavonausscheidung bei der Unterabteilung der Primulinae benützt und konnte zwei Arten der Ausscheidung des

Flavons hier feststellen. Das Flavon wird in fetter Lösung ausgeschieden, durchsetzt die Kutikula und kristallisiert als Mehlstaub aus oder das Flavon verbleibt in der fettigen Lösung und wird erst durch chemische Mittel kristallinisch gefällt.

Von 74 untersuchten Primelarten konnte das Flavon bei 25 Arten nachgewiesen werden: Primula malacoides, P. farinosa, P. auricula u. a.

Auch bei drei Arten von Dionysia konnte die an der Unterseite der Blätter an Kelch und der Blumenkrone vorkommende, aus einem Kristallgewirr bestehende gelbliche Masse als Flavon erkannt werden. Desgleichen in dem stets flüssigbleibenden Exkret der Drüsenhaare von Primula sinensis und in dem von Cortusa Matthioli, hingegen nicht in der Ausscheidung von Primula obconica. Wie Brunswik zeigte, gibt der von Nestler entdeckte kristallisierbare, hautreizende Körper von Primula obconica die Flavonreaktion nicht.

b) Das Gift der Cortusa Matthioli L.

In jüngster Zeit konnte Nestler (V, 330) auch an den Haaren des Laubblattes der gleichfalls zu den Primulaceen gehörigen Cortusa Matthioli eine giftige, hautreizende Wirkung nachweisen. Als er ein frisches Blatt mit der stark behaarten Unterseite auf die Innenseite des linken Unterarmes nahe der Handwurzel auflegte und hier 2 Stunden angedrückt beließ, entstand zunächst eine Rötung und dann ein großes Ekzem ganz so wie nach dem Auflegen eines Blattes von Primula obconica. Den Sitz des Cortusagiftes stellen die Drüsenhaare des Blattes dar, die auf der Köpfchenzelle eine farblose Sekretkappe, mitunter eine unregelmäßige, von kleinen, nadelförmigen oder prismatischen Kristallen durchsetzte Sekretmasse tragen. Diese Massen und die Kristalle zeigen aber ganz andere mikrochemische Reaktionen als die der Primula obconica. Sie lösen sich zwar auch in Alkohol und Äther leicht, die Lösung scheidet aber nach dem Verdunsten keine Kristalle ab. In Wasser sind sie unlöslich, in verdünnten Säuren leicht löslich. Eine Sublimation gelang nicht. Bei der derzeit noch mangelhaften Kenntnis des Giftes läßt sich über seine chemische Natur nichts aussagen.

c) Das Cypripediumsekret.

Durch zwei Arbeiten von Mac Dougal (I. u. II) wurde die Aufmerksamkeit auf die hautreizende Wirkung des Haarsekretes von Cypripedium spectabile und C. pubescens gelenkt, Nestler (III) hat die vorhandenen Angaben zum Gegenstand genauerer Studien gemacht. Seine an sich selbst durchgeführten Versuche beweisen, daß durch die Drüsenhaare der oberirdischen Organe von Cypripedium spectabile Salisb. die menschliche Haut in ähnlicher Weise wie durch das Primelgift gereizt wird. Entsprechende Versuche mit Cypripedium pubescens und C. parviflorum, die nach Mac Dougal ebenfalls die Haut reizen sollen, hatten aber bei Nestler keinen Erfolg. Er gibt aber trotzdem die Möglichkeit zu, daß bei anderen Personen oder unter anderen Umständen C. pubescens hautreizend wirken könnte. Die meisten untersuchten Cypripedien tragen auf ihren oberirdischen Organen mehrzellige Drüsenhaare, die aus einem mehrzelligen Stiel und einer köpfchenartigen Endzelle bestehen. Ihr Sekret stellt eine homogene,

gewöhnlich farblose Substanz dar und wird in ähnlicher Weise wie das Primelsekret von der Endzelle abgesondert. Im Gegensatz zum Primelsekret kristallisiert das Cypripediumsekret nicht und repräsentiert eine fettartige Substanz, die Farbstoffe (Anilinblau, Safranin, Methylgrün usw.) stark speichert und mit verdünnter Kalilauge und mit verdünntem Ammoniak Myelinformen bildet, was vielleicht durch eine Fettsäure veranlaßt wird. Da besonders die hautreizenden Cypripedien im Gegensatz zu den nicht hautreizenden die Myelinformen in besonders schöner Weise geben, so vermutet Nestler, daß vielleicht die hautreizende Substanz an eine Fettsäure gebunden ist. Durch Andrücken des Objektträgers an die Haare wird das Sekret leicht abgestreift. Es ist leicht löslich in Alkohol, Äther, Petroläther, Schwefelkohlenstoff und Benzol. Osmiumsäure schwärzt oder bräunt. Es reagiert neutral.

Das Sekret von Cypripedium spectabile färbt sich mit verdünntem Ammoniak sofort gelb, dann karminrot und schließlich violettrot. Weitere Untersuchungen müssen darüber Aufschluß geben, ob diese Farbenreaktion auch mit dem Sekret anderer Cypripedien gelingt und ob es für das Cypripediensekret überhaupt charakteristisch ist.

Fig. 50.
Drüsenhaare von Gymnogramme sulphurea.
a Haar mit trichitischen Kristallen.
b Dasselbe Haar nach Behandlung mit Äther.
c Gelbe Gymnogrammenkristalle aus ätherischer Lösung.

d) Drüsensekrete von Gold- und Silberfarnen.

Die Blätter der Gattungen Gymnogramme, Notochlaena und Cheilanthes tragen auf ihrer Unterseite Drüsenhaare, die an ihren Köpfchen kristallinische Sekrete absondern (Fig. 50). Die unteren Blattflächen werden, da die Drüsenhaare dicht nebeneinander stehen, hierdurch je nach der Spezies gelb oder weiß gefärbt und von den Gärtnern deshalb als Gold- und Silberfarne bezeichnet. Über die chemische Natur werden verschiedene Ansichten geäußert. Klotsch (I) hielt sie für Pseudostearoptene, de Bary (II, 105) für harzartige Körper, Wiesner (III, 111) für kristallinische Effloreszenzen, die sicherlich nicht zu den echten Fetten gehören, und Blasdale (I) findet an dem Sekret von Gymnogramme triangularis ein hellgelbes, kristallisierendes Ceropten, $C_{15}H_{16}O_4$, und eine farblose Substanz.

Die beste Untersuchung, die auf der Darstellung von reinem Material beruht, verdanken wir Zopf (I). Er isolierte aus dem Destillationsrückstande des ätherischen Auszuges von Gymnogramme chrysophylla Kaulf. und G. sulfurea Desv. zwei Substanzen: „Die eine stellt einen schön roten (etwa chromroten, in feiner Verteilung mehr gelb aussehenden) gut kristallisierenden, aromatisch riechenden Körper, das Gymnogrammen dar, welches bei 159° schmilzt und nach $C_{18}H_{18}O_5$ zusammengesetzt ist; die andere repräsentiert ein bei 63 bis 64° schmelzendes, neutral reagierendes Wachs.“ Ob aber dieses wirklich den Drüsen der Farne angehört oder nur den Wachsüberzug der Epidermis darstellt, bleibt nach Zopf fraglich.

Das Sekret von Gymnogramme calomelanos ergab einen farblosen, kristallisierenden, bei 141 bis 142° schmelzenden, schwach kampferartig duftenden Stoff von der Formel $C_{20}H_{22}O_6$, den Zopf Calomelanen nannte.

Das rote bzw. gelbe Gymnogrammen bedingt die gelbe Färbung der Drüsen von Gymnogramme chrysophylla und G. sulfurea, während das farblose Calomelanen die weiße Farbe der Haardrüsen von G. calomelanos verursacht.

Die in Rede stehenden Sekrete gehören nach Zopf in Übereinstimmung mit Wiesner nicht zu den echten Fetten, denn sie erzeugen auf Papier keinen bleibenden Fettfleck und geben mit Ätzalkalien keine schäumenden Seifen. Damit erledigen sich die vorhin erwähnten Behauptungen über die chemische Natur dieser Körper von de Bary und Klotsch von selbst.

VI. Kohlehydrate.

Ebenso wie die Fette setzen sich auch die Kohlehydrate aus den Elementen C, H und O zusammen, und zwar finden sich die beiden letzteren genau wie beim Wasser im Verhältnis von 2:1 vor. Davon hat diese Stoffgruppe auch ihren Namen erhalten. Dieses Verhältnis kann jedoch auch bei anderen nicht zu Kohlehydraten gehörigen Verbindungen zutage treten, z. B. beim Formaldehyd, der Essigsäure und anderen. Man kann sie auf Grund der Untersuchungen von E. Fischer als aldehyd- oder ketonartige Derivate mehrwertiger Alkohole bezeichnen. Die Kohlehydrate stellen neutral reagierende, indifferente Verbindungen dar, die nach ihren allgemeinen Eigenschaften und ihrer Zusammensetzung in drei Gruppen zerfallen:

1. Monosaccharide (Aldosen und Ketosen),
2. Disaccharide oder Biosen,
3. Polysaccharide oder Polyosen (Stärke, Zellulose usw.).

Die beiden letzten Gruppen geben durch Kochen mit verdünnten Säuren Monosaccharide und daher nach der Hydrolyse auch die Reaktionen der 1. Gruppe. Je nach der Zahl der Kohlenstoffatome nennt man die Monosaccharide Diosen, Triosen, Tetrosen, Pentosen, Hexosen usw., doch kommen in der Natur fast ausschließlich die beiden letztgenannten Gruppen vor.

Die Kohlehydrate spielen in der Biologie der Gewächse eine ungemein wichtige Rolle als Bau-, Reservestoffe und als Zwischenprodukte des Stoffwechsels und daher tauchte begreiflicherweise schon frühzeitig das Bedürfnis nach brauchbaren mikrochemischen Reaktionen auf. Einige Fortschritte sind bereits zu verzeichnen, aber vieles bleibt noch zu tun übrig, denn eine Unterscheidung der in der Pflanze vorkommenden Zuckerarten ist derzeit mikrochemisch meist unmöglich, und wir müssen uns vorläufig bescheiden, Zucker überhaupt nachweisen zu können.

Aus praktischen Gründen soll hier zunächst nur der mikrochemische Nachweis einiger löslicher Kohlehydrate behandelt werden, während die festen wie Zellulose, Stärke und verwandte in einem späteren Abschnitt betrachtet werden sollen.

a) Zucker.

1. Reaktion von Molisch. Der genannte Autor (III) hat zwei Zuckerreaktionen in die Chemie eingeführt, die für den Nachweis von Zucker überhaupt und der Zuckerkomponente in komplexen Verbindungen, z. B. in Kohlehydraten und Glykosiden, von Wichtigkeit geworden sind. Sie werden in folgender Weise ausgeführt:

a) Mit α-Naphtol. Eine kleine Probe, etwa $^1/_2$ bis 1 ccm der zu prüfenden Flüssigkeit wird in der Eprouvette mit 2 Tropfen einer 15—20 proz. alkoholischen α-Naphtollösung versetzt und geschüttelt. Dabei trübt sich, da etwas α-Naphtol aus der Lösung herausfällt, die Flüssigkeit. Gießt man hierauf konzentrierte Schwefelsäure im Überschuß (ebensoviel oder doppeltsoviel als Flüssigkeit vorhanden ist) dazu und schüttelt rasch, so nimmt die Probe bei Gegenwart von Zucker momentan eine tief violette Färbung an. Nachherige Verdünnung mit Wasser veranlaßt die Ausscheidung eines blauvioletten Niederschlages, der sich in Alkohol und Äther mit gelblicher, in Kalilauge mit goldgelber Farbe auflöst und in Ammoniak zu gelblichbraunen Tröpfchen zerfließt.

b) Mit Thymol. Verwendet man in der eben geschilderten Probe bei sonst gleichem Verfahren anstatt α-Naphtol Thymol, so entsteht eine zinnober-rubin-karminrote Färbung und bei darauffolgender Verdünnung mit Wasser ein karminroter flockiger Niederschlag.

Die beiden Reaktionen gelingen nicht bloß mit Zucker, sondern auch mit anderen Kohlehydraten, Glykosiden, ja sogar mit manchen Eiweißkörpern, wenn in deren Atomkomplex Kohlehydrate anwesend oder vorgebildet sind. Durch die Schwefelsäure wird eben aus den genannten Substanzen Zucker abgespalten und dieser wird durch die Reaktion von Molisch angezeigt. Ob diese durch Zucker selbst bedingt wird oder, wie Udránsky (I) meint, durch das aus dem Zucker durch die Schwefelsäure entstehende Furfurol, soll hier nicht erörtert werden, da dies für den Mikrochemiker nicht von Belang ist.

Unter gewissen Vorsichten kann man die Molisch-Reaktion zum Nachweis von Zucker auch mikrochemisch verwerten. — Ein nicht zu dünner Schnitt wird auf dem Objektträger mit einem Tropfen alkoholischer (15 bis 20%) α-Naphtollösung behandelt, hierauf 2 bis 3 Tropfen konzentrierte Schwefelsäure hinzugefügt, so daß der Schnitt in dem Gemenge völlig untergetaucht ist. Bei Gegenwart von Zucker färbt sich der Schnitt schon nach ganz kurzer Zeit schön violett, zuerst schwach, dann immer intensiver. Zuckerhaltige Schnitte geben die Reaktion fast augenblicklich oder innerhalb der ersten 2 Minuten, die anderen im Schnitte vorhandenen Kohlehydrate erst nach mehreren Minuten, oft erst nach $^1/_4$ bis $^1/_2$ Stunde.

Man kann sich von den im Wasser unlöslichen Kohlehydraten einigermaßen unabhängig machen, wenn man von dem zu prüfenden Gewebe zwei Schnitte anfertigt und den einen davon vorher in Wasser durch einige Minuten kocht. Hierbei gehen Zucker, etwa vorhandenes Dextrin, Gummi und Glykoside in Lösung. Unterwirft man dann beide Schnitte der Reaktion, so ergibt sich eventuell ein bedeutender Unterschied. Der intakte Schnitt zeigt, falls Zucker vorhanden ist, nach kurzer Zeit und intensiv die Reaktion, der gekochte dagegen, obwohl Zellulose und vielleicht Stärke vorhanden ist, viel später und schwächer.

Die rasche Violettfärbung bei dem intakten Schnitt deutet auf Zucker, möglicherweise auch auf Dextrin, Gummi und Glykoside. Ich betone jedoch ausdrücklich, daß der rasche positive Ausfall der Reaktion nicht ohne weiteres auf Zucker bezogen werden darf, sondern mehr zur Orientierung dient und die Vermutung begründet, daß Zucker vorhanden ist.

2. Die Trommersche Probe (I). Alkalische Kupferlösung, z. B. Fehlings-Lösung (vergl. p. 20), wird durch Glykose zu gelbrotem Kupferoxydul reduziert. Diese Reaktion wurde vielfach auch mikrochemisch verwertet, zuerst von Sachs (I), dann mehr oder minder modifiziert von A. Meyer (II), A. Fischer (I), Czapek (II), Hoffmeister (I) und anderen.

Sachs legt die zu prüfenden, nicht zu dünnen Schnitte in Schälchen mit konzentrierter Lösung von Kupfervitriol. Indes wird ein Schälchen mit starker Kalilauge bis zum Sieden erhitzt. Nun wird der Schnitt aus der Kupfersulfatlösung herausgenommen, im Wasser rasch abgespült und in die heiße Kalilauge hineingelegt. Bei Anwesenheit von reduzierenden Zuckerarten, z. B. von Traubenzucker, entsteht alsbald in den Zellen ein Niederschlag von Kupferoxydulkörnchen, die dem Schnitte eine gelbe bis rötliche Färbung erteilen.

Bequemer ist es, die Schnitte auf dem Objektträger in einen großen Tropfen Fehlingscher Lösung zu legen, mit dem Deckglas zu bedecken und über der Flamme des Mikrobrenners gelinde zu erwärmen.

Um Glykose in den Holzgefäßen nachzuweisen, legt A. Fischer (I) die median gespaltenen Aststücke durch 5 Minuten in eine konzentrierte Lösung von Kupfervitriol und nach vorheriger Abspülung mit Wasser in eine siedende Lösung von Seignettesalz mit Ätznatron, wo sie durch 2 bis 5 Minuten kochen müssen. Derartig behandeltes Holzmaterial kann jahrelang trocken oder in Alkohol aufbewahrt werden, läßt sich nach dem Aufweichen gut schneiden und zeigt dann noch immer die Glykosereaktion in den Gefäßen. Nach Linsbauer (I) handelt es sich aber hier nicht um eine durch Glykose, sondern durch bestimmte Zellulosenmodifikationen der verholzten Wände erfolgte Reduktion.

Die Trommersche Probe hat zwei Übelstände. 1. wird die alkalische Kupferlösung nicht bloß durch reduzierende Zuckerarten, sondern auch noch durch andere Körper (Glykoside, Amylodextrin, Phloroglucin, Hemicellulosen [Linsbauer I] usw.) reduziert, und 2. tritt die Reaktion nicht lokalisiert auf, sondern der Zucker dringt während der Reaktion aus den Zellen in die Umgebung und der auftretende Niederschlag sagt dann über die ursprüngliche Verteilung in dem Gewebe nichts Bestimmtes aus. —

Diesem letzteren Übelstande sucht A. Meyer (II) durch folgendes Verfahren abzuhelfen: „Man stellt 2 bis 4 Zellagen dicke Schnitte der zu untersuchenden Pflanzenteile her, legt sie kurze Zeit in eine gesättigte Lösung von Kupfersulfat, schwenkt sie schnell einmal in Wasser ab und bringt sie sofort in eine siedende Lösung von 10 g Seignettesalz und 10 g Ätznatron in 10 g Wasser. Nach einigen Sekunden ist in allen Zellen, welche reduzierenden Zucker enthalten, ein Niederschlag von Kupferoxydul entstanden, während die anderen Zellen vollkommen farblos bleiben.

Nachweis von Rohrzucker. Czapek (II) und Hoffmeister (I) haben eine Methode ausgearbeitet, um Rohrzucker mikrochemisch, eventuell auch neben Glykose, nachzuweisen. Diese Methode beruht im wesentlichen darauf, den vorhandenen Rohrzucker durch Hefeinvertin in Trauben- und Fruchtzucker umzuwandeln und dann den reduzierenden Zucker durch Fehlingsche Lösung festzustellen. Als Invertin verwendete Hoffmeister ein Rohprodukt, das durch Fällen eines Extraktes aus frischer, rasch getrockneter Preßhefe mit Alkohol gewonnen wurde. Die Hefe wurde mit Wasser zu einem Brei verrührt, bei 40° C ungefähr 12 Stunden stehen gelassen, abgepreßt, der Extrakt filtriert und mit Alkohol gefällt. Werden nun nicht zu dünne Schnitte, die keinen reduzierenden Zucker enthalten, in einen Tropfen konzentrierter Invertinlösung eingelegt, mehrere Stunden unter Erneuerung des Tropfens bei Zimmertemperatur belassen, dann nach A. Meyer mit einem Tropfen konzentrierter Kupfersulfat-Seignettesalz-Natronlauge behandelt, mit einem Deckglas bedeckt und erwärmt, so scheidet sich, wenn Rohrzucker früher zugegen war, alsbald rotes Kupferoxydul ab.

Selbst wenn Rohrzucker neben Traubenzucker vorhanden war, kann das Verfahren noch verwertet werden, wenn man einen Schnitt vor und einen zweiten nach der Inversion prüft. Eine stärkere Reaktionsintensität beim 2. Schnitt deutet auf die Gegenwart von Rohrzucker neben Glykose. Vorausgesetzt wird dabei, daß die Schnitte nicht schon von vornherein so viel Glykose enthalten, daß die Reaktion nach der Inversion kaum noch intensiver ausfallen kann. Auch diese Methode hat Mängel und gewisse Fehlerquellen, bezüglich welcher auf die Originalarbeit Hoffmeisters verwiesen wird. Unter Beachtung bestimmter Vorsichten wird sie jedoch in vielen Fällen gewiß gute Dienste leisten.

3. Die Phenylhydrazinprobe. Wie E. Fischer (I) gezeigt hat, geben Zuckerarten, die wie die Monosaccharide freie Aldehyd- oder Ketongruppen enthalten, mit Phenylhydrazin farblose, in Wasser meist leicht lösliche Körper, die als Hydrazone bezeichnet werden.

$$C_6H_{12}O_6 + N_2H_3 \cdot C_6H_5 = H_2O + C_6H_{12}O_5(N_2HC \cdot {}_6H_5).$$

Werden die Monosaccharide mit überschüssigem, essigsaurem Phenylhydrazin unter Erwärmen behandelt, so verbinden sie sich mit zwei Molekülen Phenylhydrazin zu gelben, im Wasser schwer löslichen, kristallisierten Körpern, den Osazonen.

$$C_6H_{12}O_6 + 2N_2H_3 \cdot C_6H_5 = 2H_2O + H_2 + C_6H_{10}O_4(N_2H \cdot C_6H_5)_2.$$

Diese Osazone spielen für die Abscheidung und den Nachweis der verschiedenen Zuckerarten eine sehr große Rolle. Während Traubenzucker, Fruchtzucker und Mannose die Osazone direkt geben, muß Rohrzucker zunächst in die beiden ersteren gespalten werden, wenn er Osazone liefern soll.

Es war naheliegend, diese Zuckerprobe auch mikrochemisch zu verwerten, zu diesem Zwecke mußte sie aber entsprechend modifiziert werden, und dies ist durch Senft (I) geschehen. Er verwendet zwei Lösungen: Eine Lösung von salzsaurem Phenylhydrazin in Glyzerin und eine zweite von Natriumazetat, gleichfalls in Glyzerin, beide im Verhältnis 1:10. Es ist zweckmäßig, bei der Bereitung der Lösungen die beiden Substanzen zunächst zu pulverisieren und dann im Wasserbade unter Erwärmen zu lösen. Die Lösungen sind getrennt in Stiftfläschchen dunkel aufzubewahren.

Soll die Reaktion ausgeführt werden, so bringt man auf den Objektträger je einen Tropfen aus den beiden Fläschchen, vermischt die beiden Tropfen mit einem Glasstäbchen, legt den zu prüfenden Schnitt hinein, bedeckt mit einem Deckglas und legt das Präparat beiseite. Ein genau ebenso angefertigtes zweites Präparat wird am siedenden Wasserbad eine halbe Stunde erwärmt und dann abkühlen gelassen. Bei Gegenwart von Zucker färben sich Schnitt und Flüssigkeit oft schon während des Erwärmens gelb und schon nach dem Abkühlen kann man häufig bei mikroskopischer Betrachtung Garben oder Büschel des Osazons wahrnehmen, die teils im Gewebe selbst, teils in der Flüssigkeit, zumal am Rande des Deckglases sich abscheiden können. Erwärmt man nicht, so dauert es oft Stunden bis mehrere Tage, bis die Osazonkristalle entstehen. Ohne Erwärmen kommt es gewöhnlich zur Bildung von kleinen Büscheln oder Sphäriten, die im polarisierten Licht schön aufleuchten (Fig. 51). Beim Nichterwärmen des Präparates entstehen die Kristalle zwar viel später, aber sie entstehen mehr lokal und sagen dann mehr über die Verteilung des Zuckers aus. Beim Erwärmen tritt die Reaktion, weil der Zucker aus den Zellen herausdiffundiert, mehr diffus auf. Da beide Präparate ihre Vorteile haben, ist es zweckmäßig, immer zwei Proben zu machen, die eine bei gewöhnlicher und die andere bei höherer Temperatur.

Fig. 51.
Osazonkristallformen, mit essigsaurem Phenylhydrazin aus der Apfelfrucht erhalten. *a* Büschel und Sterne, *b* Sphärite im Parenchym. Das große Büschel links 60mal, alles übrige 180mal vergrößert.

In der Kälte geben wässerige Dextroselösungen (1 : 1) oft erst am fünften Tage reichlich Abscheidungen von kleinen Sphäriten, hingegen nach dem Erwärmen schon nach einer halben Stunde.

Senft konnte in sehr zahlreichen Objekten (Birne, Apfel, Feige, Johannisbrot usw.) mit Phenylhydrazin Osazone erhalten, unter anderen auch mit den Keulenhaaren der Staubgefäße von Verbascum-Arten, in welcher sich nach Vogl (I) gleichwie in den Epithelzellen der Staubfäden gelbe Sphärite vorfinden. Diese bestehen aber nicht aus Zucker, sondern aus dem Glykosid Hesperidin (Tunmann IV).

Die Untersuchungen von Senft setzen uns in den Stand, Zucker mikrochemisch im Gewebe nachzuweisen. In der Kälte werden wohl nur Monosaccharide angezeigt, bei Erwärmen erfolgt aber eine Inversion der Biosen durch das Glyzerin und dann können natürlich auch diese indirekt die Proben geben. Je nachdem man die Reaktion mit oder ohne Erwärmen ausführt, kann man bis zu einem gewissen Grade nach Senft nicht nur Zucker nachweisen, sondern auch Monosaccharide und Biosen (Rohrzucker) unterscheiden.

Einen Schritt weiter ging Grafe (I), indem er zeigte, wie man zwischen Glykose und Fruktose mikrochemisch unterscheiden kann. Er fand, daß das sekundäre asymmetrische Methylphenylhydrazin nicht mit Glykose, wohl aber mit Fruktose ein Methylphenylosazon gibt. Zur Ausführung der Reaktion benutzte er Lösungen von Methylphenylhydrazinchlorhydrat und Natriumacetat in Glyzerin von der Konzentration 1 : 10. Im übrigen verfährt man nach Grafe bei der Ausführung der mikroskopischen Reaktion ganz analog, wie wir dies bei dem Senftschen Zuckernachweis kennen gelernt haben, nur dehnt man die Erwärmung des Präparates nicht über 10 Minuten aus. Nach längerer oder kürzerer Zeit scheidet sich, bei den kaltbehandelten Präparaten erst nach 3—4 Tagen, das Fruktosemethylphenylosazon in Form von Garben, Bündeln, Sternen, Sphäriten oder Schollen von hellgelber, gelbroter bis brauner Farbe aus.

Grafe untersuchte auch Pflanzenobjekte nacheinander auf Glykose, Fruktose, Saccharose und Maltose und ging hierbei in folgender Weise vor. Zunächst wird eine Serie von Präparaten mit Methylphenylhydrazin kalt und warm geprüft, wobei jedoch die Erwärmung nicht über 10 Minuten ausgedehnt wird, weil sonst eine Inversion der Biosen hätte eintreten können. Treten Osazonkristalle auf, so ist auf die Gegenwart von Fruktose zu schließen. Eine zweite Serie von Schnitten wird nun mit Phenylhydrazin geprüft. Bei positivem Ausfall kann sowohl Fruktose als auch Glykose die Osazonbildung veranlaßt haben. Aus dem Ausfall der ersten Versuchsreihe war aber schon zu ersehen, ob Fruktose vorhanden war oder nicht. Endlich wird eine dritte Serie von Schnitten mit Phenylhydrazin 1—$1^1/_2$ Stunden am kochenden Wasserbade erwärmt. Hierbei wird Saccharose und zum Teil auch Maltose durch die Einwirkung des Glyzerins invertiert. Tritt im Vergleich zu den Versuchen von 1 und 2 eine bedeutende Vermehrung der Osazonbildung ein, so deutet dies auf Rohrzucker und Maltose. Ist Maltose vorwiegend vorhanden, so gibt, da sie bei der Inversion in zwei Moleküle Glykose zerfällt, Methylphenylhydrazin keine Vermehrung der Fruktose-Methylphenylosazone. Zu dem kommt, daß das Methylphenylosazon ganz charakteristische, von den übrigen Osazonen abweichende Kristalle, nämlich flache breite Einzelnadeln gibt. Auf diese Weise konnte Grafe z. B. in der Birnenfrucht, im Blütenboden der Tulpe, der Hyazinthe und im grünen Blatt von Allium Cepa Dextrose, Fruktose und Saccharose nebeneinander nachweisen und bei verschiedenen Pflanzen zeigen, wie diese Zuckerarten je nach dem Entwicklungsgange der Pflanze oder beim Treiben und Keimen ineinander übergehen.

4. Andere Reaktionen. Nach Bayer (I) und G. Hoppe-Seyler (I) wird Orthonitrophenylpropiolsäure bei Anwesenheit von schwachen Alkalien, z. B. kohlensaurem Natrium, durch Traubenzucker in der Wärme zu Indigo reduziert, und Knuth (I) hat diese Reaktion mit Erfolg benutzt, um reduzierenden Zucker in Blüten nachzuweisen und auf chemischem Wege zweifelhafte Nektarien in verschiedenen Blüten aufzufinden. Weitere systematische Untersuchungen müssen lehren, ob diese Reaktion eindeutig ist und ob sie sich für den mikrochemischen Nachweis von reduzierendem Zucker im Pflanzengewebe überhaupt eignet.

Auf die von Kraus (I) empfohlene sogenannte morphologische Zuckerreaktion, die darauf beruht, den Zucker durch wasserentziehende Mittel, wie Alkohol und Glyzerin, in Form von starkglänzenden Siruptröpfchen in den Zellen auszuscheiden, will ich nicht näher eingehen, weil sie zu unsicher ist und mit den modernen Methoden nicht konkurrieren kann.

Auch will ich mit Rücksicht auf die weite Verbreitung des Zuckers mich nicht mit der Anführung spezieller Vorkommnisse desselben beschäftigen, sondern mich diesbezüglich mit dem Hinweis auf das einschlägige Kapitel bei Czapek (III, 188) begnügen.

Beim Nachweis des Zuckers muß kritisch vorgegangen werden; man muß beachten, daß nicht immer nativer Zucker angezeigt werden muß, sondern daß durch Enzyme namentlich beim Eintrocknen von Drogen oder durch Erwärmen der Reagentien Zucker auch aus Glykosiden abgespalten werden kann und daß viele Zuckerreaktionen durchaus nicht eindeutig sind.

b) Inulin.

Der Begriff Inulin hat sich nach und nach zu einem Gruppenbegriff entwickelt. Man versteht darunter mehrere, schwer unterscheidbare, nahe verwandte, linksdrehende Kohlehydrate, die durch starken Alkohol in Form von Sphärokristallen gefällt werden, sich mehr oder minder in Wasser ohne Kleisterbildung lösen und häufig in unterirdischen Organen als Reservestoffe in gelöster Form aufgestapelt werden. Den Botaniker interessiert hauptsächlich das Inulin par excellence, das namentlich für die Familie der Compositen charakteristisch ist und auch hier im Rhizom vom Inula Helenium entdeckt wurde.

Fig. 52.
Inulinsphärite im Parenchym der Wurzelknolle von Dahlia variabilis. Alkoholpräparat. Vergr. 180.

Nachweis des Inulins $6(C_6H_{10}O_5)\,H_2O$.

1. Fällung durch Alkohol. Das Inulin kommt in der lebenden Pflanze stets gelöst vor. Bringt man auf einen nicht allzu dünnen Schnitt durch die Knolle von Dahlia variabilis einen großen Tropfen absoluten Alkohols, so entsteht sofort im Gewebe und seiner Umgebung ein milchiger Niederschlag von kleinen Körnchen, nach etwa 5—10 Minuten tritt stellenweise wieder eine Klärung ein, der feine Niederschlag verschwindet und statt dessen treten größere Kugeln oder, der Wand aufsitzend, Halbkugeln auf, einzeln oder in traubigen Verbänden. Die Kugeln zeigen oft radial verlaufende Sprünge oder konzentrische Schichten; oft macht sich ein kompakterer Kern und rings um diesen eine hellere Schicht bemerklich. Diese Kugeln sind Sphärokristalle des Inulins (Fig. 52). In größerer Menge und in größeren Dimensionen

erhält man die Sphärite, wenn man inulinhaltige Stücke oder ganze Knollen in absoluten Alkohol auf Wochen oder Monate einlegt. Es erscheinen dann die Zellen größerer Gewebekomplexe oft vollständig erfüllt von Inulinsphäriten, von denen einzelne sich auf mehrere Zellen erstrecken können. Sachs (II) hat zuerst diese Art des Inulinnachweises in die Mikrochemie eingeführt und genauer studiert.

Die bei dieser Art des Nachweises auftretenden Sphärite geben häufig gar nicht den Ort an, wo das gelöste Inulin früher seinen Sitz hatte. Will man die Abscheidung mehr lokalisieren, d. h. die Verteilung kennen lernen, so empfiehlt es sich, die Pflanzenteile austrocknen zu lassen und das Inulin durch langsamen Wasserentzug zur Abscheidung zu bringen (Prantl I, 39).

Die Inulinsphärite sind doppelbrechend, reduzieren Fehlings Lösung nicht, sind in absolutem Alkohol, Äther, Schwefelkohlenstoff, Benzin und Glyzerin unlöslich, in kaltem Wasser schwer, in heißem leicht löslich. Die Löslichkeit in kaltem Wasser nimmt nach Leitgeb (I) mit dem Alter der Sphärite ab.

2. Mit *α*-Naphtol oder Thymol. Behufs sicherer Erkennung des Inulins kann man auch die beiden Zuckerproben von Molisch (III) heranziehen, da ja noch zahlreiche andere Stoffe nach Behandlung der Gewebe mit Alkohol in Form von Sphäriten herausfallen können. Inulinsphärite zeichnen sich durch die bemerkenswerte Eigenschaft aus, mit *α*-Naphtol und Schwefelsäure sofort tief violett zu werden. Bei Verwendung von Thymol anstatt *α*-Naphtol lösen sie sich unter Rotfärbung auf. Bei der Ausführung der Reaktion ist darauf zu achten, daß die Schnitte nicht mit Wasser benetzt, sondern direkt der Reaktion unterworfen werden.

3. Orcinprobe. Wenn man nach Green (I) Inulinsphärite enthaltende Schnitte mit einer alkoholischen Orcinlösung, hierauf mit starker Salzsäure behandelt und erwärmt, so lösen sich die Inulinsphärite auf und der Schnitt färbt sich orangerot. Mit Phloroglucin entsteht unter sonst gleichen Umständen eine mehr braune Farbe.

Nach meinen Erfahrungen ist es vorteilhafter, anstatt Salzsäure konzentrierte Schwefelsäure zu verwenden. Man erspart das Erwärmen, die Reaktion tritt sofort und in einem intensiveren orangeroten Farbenton auf.

4. Die Pyrrogallol- und Resorcinprobe. Tunmann (I) empfiehlt Pyrrogallol- und Resorcinsalzsäure (0,1 g in 5 g Alkohol und 5 g konzentrierter Salzsäure) zum Nachweis des Inulins. Erstere färbt bei kurzem, gelindem Erwärmen (kein Kochen) violettrot, letztere zinnoberrot. Leider muß diesem Nachweis eine sehr umständliche Vorbehandlung der Präparate vorhergehen, bestehend in einer achttägigen Behandlung mit Weinsäure-Alkohol behufs Entfernung der Alkaloide, in einem möglichst langen (8—10 Wochen!) Aufenthalt in Alkohol behufs Härtung des Inulins und in einem Auswaschen mit Wasser zur Entfernung des Zuckers.

Wie bereits bemerkt, treten nach Behandlung mit Alkohol in den Geweben verschiedener Pflanzen Sphärite auf (vgl. p. 56), die aber trotz ihrer äußeren Ähnlichkeit nicht aus Inulin bestehen. So hat z. B. Leitgeb (II, 230) darauf aufmerksam gemacht, daß bei Dahliaknollen neben Inulinspäriten und Tyrosinkristallen sich auch solche von

phosphorsaurem Kalk bilden können. Besonders in solchen Fällen, wo es sich darum handelt, Inulinsphärite von anderen zu unterscheiden, werden die Proben 2 und 3 mit Vorteil zur Entscheidung herangezogen werden können; doch immer mit der nötigen Reserve, weil ja die Molisch-Reaktion eine Klassenreaktion darstellt und auch Orcin mit anderen Kohlehydraten leicht ähnliche Farbenreaktionen gibt. Man muß darauf achten, daß der Sphärit sich schon im Auflösen oder, wenn er sich zu rasch löst, daß sich seine nächste Umgebung färbt.

Sphärite von Hesperidin unterscheiden sich von denen des Inulin unter anderem dadurch, daß sie im heißen Wasser unlöslich sind und sich in Alkalien mit gelber Farbe lösen.

Vorkommen.

Das Inulin spielt als Bau- und Reservestoff ähnlich dem Zucker und der Stärke bei gewissen Familien eine wichtige ernährungsphysiologische Rolle. H. Fischer (I) hat eine genaue, zum Teil auf eigenen Untersuchungen fußende Zusammenstellung über die Verbreitung dieses Kohlehydrates gegeben, der ich folgendes entnehme. Inulin wurde bisher bei folgenden Familien aufgefunden: Compositae, Campanulaceae, Lobeliaceae, Goodeniaceae und Stylidiaceae. In diesen Familien ist das Inulin weit verbreitet, so daß sich hier die Verwandtschaft der Arten, Gattungen und Familien auch durch ihren Chemismus kundgibt. Das Inulin ist aber durchaus nicht auf den erwähnten Verwandtschaftskreis beschränkt, sondern ist auch bei einzelnen Gattungen konstatiert worden, die den genannten Familien sehr ferne stehen. Es gehören hierher die Violacee Jonidium commune H. Hil. und andere Jonidium-Arten, Drosophyllum lusitanicum Lk., Leucojum vernum L., Galanthus nivalis L. und die Algen Acetabularia mediterranea Lam., A. crenulata Lam., Botryophora occidentalis J. G. Ag. und Polyphysa Peniculus Ag. —

Dem Inulin sehr ähnliche Kohlehydrate. Neben dem Inulin gibt es noch eine Reihe sehr nahe verwandter Kohlehydrate, die von gewissen Pflanzen gleichfalls als Reservestoff in gelöster Form gespeichert werden und die man mit dem Inulin zur Inulingruppe vereinigt hat (Abderhalden I, 184).

Diese Körper geben auch bei der Hydrolyse Fruktose und sind unter den Namen Phleïn, Triticin, Graminin, Scillin, Sinistrin und Irisin beschrieben worden. Sie unterscheiden sich vom Inulin durch größere Löslichkeit bei vermutlich geringerem Molekulargewicht, stärkere Linksdrehung ihrer Lösungen und durch die geringe Tendenz, Sphärite zu bilden. Man fand diese Kohlehydrate bei verschiedenen Monocotylen: Phleum pratense L., Triticum repens L., Phalaris arundinacea L., Trisetum alpestre P. B., in den Gattungen Agrostis, Calamogrostis, Festuca, Avena, ferner bei Urginea maritima Baker, Cordyline australis Hook, C. rubra Hügel, Yucca filamentosa L., Iris Pseudacorus L. und I. sibirica. Als H. Fischer (I, 87) Rhizomstücke von Phleum, Triticum, Cordyline, Yucca und Iris Pseudacorus für längere Zeit in starken Alkohol einlegte, erhielt er keine Sphärite, sondern nur schaumig-geronnene Massen, die den Zellwänden anlagen.

c) Glykogen $(C_6H_{10}O_5)_n$.

Dieses im Tierreich so häufig vorkommende Kohlehydrat wurde von Errera (I, II) auch bei zahlreichen Pilzen (Ascomyceten, Muco-

rineen und Basidiomyceten) und später von anderen Forschern auch bei vielen Cyanophyceen mikrochemisch nachgewiesen.

Das Glykogen ist ein schneeweißes amorphes Pulver, in Wasser mit starker Opaleszenz leicht löslich, die Lösung ist eine kolloidale. Es wird aus der Lösung durch $Ba(OH)_2$, Essigsäure, Gerbsäure und Phosphorwolframsäure gefällt, reduziert nicht FEHLINGS Lösung und wird durch verdünnte Säuren schließlich in Dextrose umgewandelt.

Nachweis.

1. Mit Jodlösung. Das Glykogen hat die Eigenschaft, mit wässeriger Jodlösung eine rotbraune oder mahagonibraune Farbe anzunehmen. ERRERA bringt die zu prüfenden Objekte in eine Jodjodkaliumlösung von bestimmter Konzentration (Jod 0,1 g, Jodkalium 0,3 g, destilliertes Wasser 45 g). Bei Gegenwart von Glykogen färbt sich der Zellinhalt in der angegebenen Weise. Beim Erwärmen der Objekte auf 50 bis 60° C verschwindet die Färbung, um beim Abkühlen wieder zu erscheinen. Die schwach gelbe Färbung des Plasmas ändert sich hierbei nicht. Aus der Tiefe der Färbung läßt sich annähernd ein Schluß auf die Menge des vorhandenen Glykogens ziehen. Bei der Deutung dieser Reaktion wird man namentlich bei schwacher Färbung, die ja auch vom Plasma oder Eiweiß herrühren kann, vorsichtig sein müssen. Nur bei relativ stark brauner Färbung wird man mit großer Wahrscheinlichkeit auf Glykogen schließen können, besonders wenn die mikrochemische Reaktion durch die makrochemische unterstützt wird und man auf die Gesamtheit der Eigenschaften des Glykogens achtet.

Es ist nicht gleichgültig, welche Jodkonzentration man verwendet. Die Lösungen dürfen nicht zu konzentriert sein, weil sich dann neben dem Glykogen noch andere Substanzen braun färben. WILL (I) empfiehlt eine Lösung von 6 g Jodkalium, 2 g Jod und 120 g Wasser. Durch diese Lösung wird das Plasma der Hefe schwach gelb, das Glykogen aber tief braunrot gefärbt. ZIKES (I) erhielt bei einer vergleichenden Prüfung die besten Resultate mit der LUGOLschen Lösung (ein Teil Jod, zwei Teile Jodkalium und 300 Teile Wasser).

2. Tannin-Safraninfärbung des Glykogens. Diese Reaktion wurde von A. FISCHER (I) angegeben, für Cyanophyceen ausprobiert und beruht im wesentlichen darauf, das Glykogen durch Tannin zu fällen, die Fällung, die sich im Wasser wieder auflösen würde, durch Kaliumbichromat dauernd fast unlöslich zu machen und zu färben. FISCHER geht in folgender Weise vor. Er fixiert die Objekte in Alkohol, legt sie für 5 bis 10 Minuten in eine 10proz. wässerige Tanninlösung, dann in eine 1proz. und hierauf 5 bis 10 Minuten in eine 10proz. Kaliumbichromatlösung. Nun ist die Glykogentanninfällung soweit unlöslich geworden, daß man mit Wasser abspülen und färben kann. Sehr gute Färbung erzielt man mit wässeriger Methylenblau- oder Gentianaviolettlösung; die brillanteste Färbung aber gibt Safranin-Anilinwasser, in das die Objekte auf 10 Minuten eingetaucht werden. Wenn die Objekte hierauf in Wasser abgespült, in Alkohol, Xylol entwässert nnd dann in Balsam eingelegt werden, so erscheint das Glykogen in leuchtend roten, kugeligen oder unregelmäßigen Massen und hebt sich vom übrigen Zellinhalt, der nicht oder nur wenig gefärbt ist, scharf ab.

Für den Nachweis des Glykogens in tierischen Objekten hat man auch noch andere Färbungsmethoden ausgearbeitet, so die Gentianaviolettfärbung nach Lubarsch (I) und die Karminmethode nach Best (I), doch gehe ich nicht näher darauf ein, da diese Methoden auf die Pflanze noch zu wenig angewendet worden sind und da allen diesen Färbungsmethoden naturgemäß eine gewisse Unsicherheit anhaftet. Die Färbung ist ja keine für das Glykogen spezifische, sondern es werden auch andere Substanzen der Zelle gefärbt. Bei der Interpretation dieser Farbenreaktionen muß ganz besonders auf die Form und die Lagerung des Glykogens geachtet und die Jodprobe immer vergleichend zu Rate gezogen werden.

Vorkommen.

Das Glykogen stellt in Tieren einen wichtigen Vorratsstoff („tierische Stärke") dar und findet sich hier im Knorpel, Muskel und insbesondere in der Leber vor. Im Pflanzenreiche hat man es bisher nur bei Pilzen und Cyanophyceen gefunden. Errera hat es in der Bierhefe, bei Ascomyceten, Basidiomyceten und Phykomyceten nachgewiesen. „Le Glycogène est l'amidon des Champignons." Ensch (I) fand bei allen untersuchten Myxomyceten Glykogen. Den Rostpilzen scheint es zu fehlen. Auch in gewissen Bakterien kommt nach A. Meyer (III) Glykogen oder ein diesem nahestehendes Kohlehydrat vor. Quantitative Untersuchungen über die Menge des Glykogens verdanken wir Clautriau (I). Er fand im Steinpilz 20%, im Fliegenpilz 14% und in Bierhefe mehr als 31% Glykogen, bezogen auf die Trockensubstanz.

Das Glykogen vertritt auch bei den Cyanophyceen die Stelle der Stärke. Anknüpfend an ältere Beobachtungen konnte Hegler (I) zeigen, daß Glykogen bei Belichtung sich in den Zellen von Oscillaria limosa vermehrt, bei Verdunkelung aber allmählich verschwindet. Ähnliches beobachtete Kohl (I), und A. Fischer konnte mit Hilfe der von ihm vorgeschlagenen Probe dartun, daß das Glykogen bei den Cyanophyceen das erste nachweisbare Assimilationsprodukt darstellt und im Chromatophor gebildet wird. Von hier wandert es aus und wird im Zentralkörper der Zelle gespeichert oder in ein anderes Kohlehydrat, in das von Fischer entdeckte Anabaenin, umgewandelt.

d) Anabaenin.

Bezüglich der Bakterien und Cyanophyceen wird noch heute darüber gestritten, ob sie einen Kern besitzen oder nicht. Hegler (I) und Kohl (I) betrachten den Zentralkörper der Cyanophyceen als echten Kern, jedoch ohne Wand und Nukleolus, während A. Fischer (I) diese Ansicht entschieden bekämpft und die mitosenartigen Körper, die man in der Cyanophyceenzelle namentlich bei ihrer Teilung häufig sieht, für ein neues Kohlehydrat, das Anabaenin hält. Nach Fischer bestehen die Zentralkörper und die Pseudomitosen aus dem Anabaenin, es ist das spezifische Kohlehydrat der Cyanophyceen wie etwa das Paramylon bei den Euglenen. Er (I, 113) charakterisiert das Anabaenin wie folgt: „Farblos, stark glänzend, unlöslich in kaltem und kochendem Wasser, unlöslich in Kochsalz, konzentriertem Magnesiumsulfat, 20proz. Kupfersulfat und anderen Salzlösungen, unverdaulich in Pepsin- und Pankreasglyzerin, unlöslich in konzentriertem Ammoniak und konzentrierter Essigsäure, in Alkohol, Xylol, Äther, Toluol, Chloroform, farblos quellbar in Kupferoxydammon, farblos in Chlorzinkjod, unlöslich in stark verdünnten Mineralsäuren, sofort löslich in kon-

zentriertem, langsam löslich in 5proz. Kali, färbt sich nicht mit Jod- und Karminlösungen, färbt sich schwach, nicht chromatinähnlich, mit Safranin, Gentiana, Jod- und Methylgrün, mittelstark mit DELAFIELDS Hämatoxylin, gut mit Methylenblau und sehr intensiv mit Eisenalaunhämatoxylin".

Das Anabaenin findet sich im Zentralkörper in Form von kugeligen oder scheibenförmigen Gebilden, den Zentralkörnern oder in Gestalt von Knäueln und chromosomenähnlichen Körpern, die bei der Zellteilung Mitosen vortäuschen. — Heiße 10proz. Mineralsäuren oder 5proz. Oxalsäure, Jodkalium oder Chlorzinkjod verwandeln das Anabaenin teilweise in Glykogen, aus dem es auch entstanden ist. Durch ein in der Cyanophyceenzelle vorhandenes Ferment, die Anabaenase, wird das Anabaenin schon in sehr kurzer Zeit (10 bis 15 Minuten) wahrscheinlich in Zucker verwandelt.

Erwähnt sei noch, daß das Anabaenin anisotrop erscheint und nach FISCHER hierdurch das Bild der sogenannten Gasvakuolen (vgl. p. 69) veranlassen soll, die bei Druck oder Einwirkung verschiedener Stoffe verschwinden, indem sie ihre mizellare Stuktur verändern.

VII. Schwefelverbindungen.

Es sind bisher nur wenige Versuche unternommen worden, organische Schwefelverbindungen der Fettreihe mikrochemisch nachzuweisen. Sie betreffen das Knoblauchöl und die Senföle.

a) Knoblauchöl = Allylsulfid $C_6S = (C_3H_5)_2S$.

Spezifische Reaktionen für dieses Öl kennt man nicht. VOIGT (I) benutzt die von WERTHEIM (I) seinerzeit für diesen Körper angegebenen Reaktionen, um die Verteilung des Knoblauchöls in der Pflanze mikrochemisch zu prüfen. Es sind dies folgende:

Platinchlorid gibt mit Knoblauchöl einen reichlichen gelben Niederschlag.

Quecksilbersalze liefern eine weißliche Fällung.

Salpetersaures Palladiumoxydul gibt kermesbraunen Niederschlag.

Salpetersaures Silber (1 bis 2%) liefert eine feinkörnige Fällung von Schwefelsilber.

Goldchlorid gibt einen gelben Niederschlag.

Konzentrierte Schwefelsäure färbt das Öl schön rot.

Die besten Resultate geben nach VOGT die Silbernitratlösung und Palladiumoxydulsalze (Nitrat in fast wasserheller Verdünnung), während die anderen Reaktionen zu keinen präzisen Ergebnissen führen.

Geprüft wurden Allium Cepa, sativum, porrum, Schoenoprasum moly, Victorialis, ursinum, fistulosum, urceolatum und coerulescens. Es wurden entweder dünne Schnitte auf dem Objektträger untersucht oder es wurden ganze Pflanzenteile in die Lösung eingelegt. Das Eindringen dieser wurde unter der Luftpumpe beschleunigt, und hierauf wurden Schnitte angefertigt, eventuell nach vorhergehender Härtung in Alkohol.

In der Epidermis der Zwiebelschuppe von Allium sativum und in den die Gefäßbündel umschließenden Zellen liegen stark licht-

brechende Tropfen und eben diese Zellen sind es, die mit Silbernitrat eine schwarze Fällung geben. Sie läßt sich auch in den Zellen der Wurzelhaube junger Wurzeln beobachten, dann in der Oberhaut und dem subepidermalen Rindenparenchym, hier und in den Durchlaßzellen auch bei alten Wurzeln. In geringem Maße auch in der Oberhaut und der Umgebung der Leitbündel der Stengel und Blätter. — Wurzeln von Wasserkulturen zeigen die Reaktion mit Silbernitrat nach wenigen Sekunden. Die anderen Allium-Arten geben im wesentlichen dieselben Resultate, und zwar fand VOIGT das Knoblauchöl:

1. In der Epidermis und der Gefäßbündelscheide der Stengel, Blätter und Zwiebelschuppen.
2. In der Gefäßbündelscheide der Blütenteile.
3. In den Durchlaßzellen der äußeren Endodermis der Wurzel und in der Wurzelhaube.
4. In der Frucht- und Samenschale.
5. In der den Embryo umgebenden Zellschicht des Endosperms.

Allium ursinum verhält sich wie die anderen Arten, doch enthält nach SEMMLER (I) diese Art nicht Allylsulfid, sondern Vinylsulfid (C_4H_6S).

Die erwähnten Reaktionen sind natürlich nicht eindeutig. Das Silbernitrat könnte ja auch durch Aldehyd zu metallischem Silber oder durch Gerbstoffe oder Glykose zu schwarzbraunem Oxydul reduziert werden. Aber die von VOIGT gemachten Kontrollversuche sprachen durchwegs zugunsten der Ansicht, daß die erhaltenen Reaktionen durch das Knoblauchöl bedingt waren.

Von weiteren Vorkommnissen des Allysulfids wären noch zu erwähnen: Thlaspi arvense, Iberis amara (Kraut und Samen), Capsella bursa pastoris (Same), Alliaria officinalis. Schwefelhaltige Öle vom Allylsulfidtypus wurden auch in Lepidium-Arten, Raphanus sativus, Samen von Brassica Napus L., Cochlearia Draba und Cheiranthus annuus L. nachgewiesen. Neueren Angaben zufolge soll im Knoblauchöl und in Alliaria officinalis nicht Allylsulfid, sondern Allyldisulfid vorhanden sein (ABDERHALDEN II, 931).

Da man in sehr vielen Fällen von dem Knoblauchöl in der lebenden Pflanze direkt nichts sieht, erscheint es nicht unwahrscheinlich, daß wenigstens ein großer Teil des Öls erst postmortal durch Spaltung, analog den Senfölen, aus komplizierteren Schwefelverbindungen vielleicht enzymatisch entsteht. Diese Vermutung wäre genauer zu prüfen.

b) Senföle.

Man versteht darunter organische Schwefelverbindungen, die als Ester einer hypothetischen Isothiocyansäure aufgefaßt werden, in denen Alkyl an Stickstoff gebunden ist und denen daher folgende Struktur zukommt $C\begin{matrix}\text{N.R.}\\ \text{S}\end{matrix}$. Die Senföle sind stechend riechende, unzersetzt flüchtige Flüssigkeiten, die auf der Haut Blasen ziehen und sich im Wasser wenig oder gar nicht lösen. Besonderes Interesse verdient das Allylsenföl C_3H_5NCS, das aus myronsaurem Kalium, einem Glykosid, durch das Ferment Myrosin abgespalten wird.

Mikrochemische Reaktionen für dieses namentlich bei den Cruciferen und deren nächsten Verwandten häufig auftretende Senföl sind

derzeit nicht bekannt. Die von Solla (I) empfohlenen haben sich, wie Molisch (II, 33) seinerzeit schon hervorhob, leider nicht als brauchbar erwiesen.

Über die Beziehungen des Allylsenföls zu seinem Glykosid und zu dem Ferment Myrosin wird später noch ausführlich die Rede sein.

Literatur

zu p. 105 bis 142.

Abderhalden, E., I. Biochemisches Handlexikon. Bd. II, 1911, p. 184.

—, II. Ebenda, Bd. IV, p. 931.

Adami, J. G. u. Aschoff, L., I. On the myelins, myelin bodies and potential fluid crystals of the organism. (Proc. Royal. Soc. 1906, Bd. LXXVIII, p. 359.)

de Bary, I. Über die Wachsüberzüge der Epidermis. (Bot. Ztg. 1871, Jg. 29, p. 128.)

—, II. Vgl. Anatomie der Vegetationsorgane usw. Leipzig 1877, p. 86.

Behrens, H., I. Mikrochemische Analyse organischer Verbindungen. Heft IV.

—, II. Ebenda, Heft I.

Beneke, I. Studien über das Vorkommen, die Verbreitung und die Funktion von Gallenbestandteilen usw. Gießen 1862.

Best, I. Verhandlungen der italien. patholog. Gesellschaft. 1901.

Baeyer, A., I. Ber. d. d. chem. Gesellschaft. Bd. XIII, p. 2260 u. Bd. XIV, p. 1741.

Bergmann, E., I. Über das Vorkommen der Ameisensäure und Essigsäure in den Pflanzen usw. (Bot. Ztg. 1882, Jg. 40, p. 731.)

Blasdale, I. Justs bot. Jahresber. 1893, Bd. I, p. 317.

Borodin, J., I. Über die mikrochemische Nachweisung und die Verbreitung des Dulcits im Pflanzenreich. (Revue des Scienc. Nat. publ. p. l. Société d. Natural. d. St. Petersbourg. 1890, No. 1, p. 26—31; Refer. i. Biol. Zbl. 1890, Bd. XLIII, p. 175.)

—, II. Über die physiologische Rolle und die Verbreitung des Asparagins im Pflanzenreiche. (Bot. Ztg. 1878, Jg. 36, p. 801.)

—, III. Über Sphärokristalle aus Paspalum elegans und über die mikrochemische Nachweisung von Leucin. (Arbeiten d. St. Petersburger naturf. Ges. Bd. XIII, Lfg. I, p. 47—60; Refer. Bot. Zbl. 1884, Bd. XVII, p. 102.)

Brücke, E., I. Über den Zusammenhang zwischen der freiwilligen Emulgierung der Öle und dem Entstehen sogenannter Myelinformen. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. i. Wien. 1879, III. Abt., p. 268.)

Brunswik, H., I. Die Mikrochemie der Flavonextrakte bei den Primulinae. Sitzungsber. d. Akad. d. Wiss. i. Wien 1922.

Buscalioni, L., I. Der Sudan III und seine Verwendung in der botan. Mikrotechnik. (Bot. Zbl. 1898, Bd. LXXVI, p. 398.)

Classen, A., I. Handbuch der qualitativen chemischen Analyse. 6. Aufl. Stuttgart 1906, p. 308.

Clautriau, G., I. Etude chimique du glycogène chez les champignons et les levures (Mém. cour. et autr. Mém. p. l'Acad. roy. d. Belg. 1895, 3./III.)

Czapek, F., I. Zur Lehre von den Wurzelausscheidungen. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1896, Bd. XXIX, p. 335 u. 340.)

—, II. Über die Leitungswege der organischen Baustoffe im Pflanzenkörper. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. i. Wien 1897, Bd. CVI, p. 14 d. Sep.-Abdr.)

Czapek, F., III. Biochemie, 1913, Bd. I, p. 240.

—, IV. Über die Methode z. direkten Bestimmung der Oberflächenspannung der Plasmahaut von Pflanzenzellen. Jena 1911, p. 8.

Emich, F., I. Lehrbuch der Mikrochemie. Wiesbaden 1911, p. 144.

Ensch, I. Le glycogène chez les Myxomycètes. (Recueil de l'institut botanique Bruxelles, 1899, Bd. I, p. 297.)

Errera, L., I. Sur le Glycogène chez les Basidiomycètes. (Extraits d. Bull. 3. sér., T. VIII, no. 12, 1884 et des mémoires de l'Acad. Roy. d. Belgique, T. XXXVII, 1885.)

—, II. Über den Nachweis des Glykogens bei Pilzen. (Bot. Ztg. 1889, Jg. 44, p. 316.)

Fischer, A., I. Beiträge zur Physiologie der Holzgewächse. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1891, Bd. XXII, p. 74.)

—, II. Die Zelle der Cyanophyceen. (Bot. Ztg. 1905, Jg. 63, p. 65.)

Fischer, E., I. Die Synthesen in der Zuckergruppe. (Ber. d. deutschen chem. Ges. 1890, Bd. XXIII, p. 2114 usw.)

Fischer, H., I. Über das Inulin, sein Verhalten außerhalb und innerhalb der Pflanze usw. (Beitr. z. Biol. d. Pflanzen 1898, Bd. VIII, p. 53.)

Gießler, R., I. Die Lokalisation der Oxalsäure in der Pflanze. (Jena 1893. Sonderabdr. a. d. Jenaischen Ztschr. f. Naturw.)

Grafe, V., I. Studien über den mikrochemischen Nachweis verschiedener Zuckerarten in den Pflanzengeweben mittels der Phenylhydrazinmethode. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. i. Wien 1905, Bd. CXIV, Abt. I, p. 15.)

Green, J. R., I. On the germination of the tuber of the Jerusalem Artichoke [Helianthus tuberosus]. (Annals of Botany I., p. 223.)

Hartig, Th., I. Entwicklungsgeschichte des Pflanzenkeims usw. Leipzig 1858, p. 126.

Hartwich, C., u. Uhlmann, W., I. Über den Nachweis fetter Öle durch mikrochemische Verseifung. (Arch. f. Pharm. 1903, Bd. CCLI, p. 111.)

Harvey-Gibson, I. Note on the Anatomy and Herbal History of Symphytum offic. (Pharm. Journ. London 1912, Bd. I, p. 91.)

Haushofer, K., I. Mikroskopische Reaktionen. Braunschweig 1885, p. 46.

Hegler, R., I. Untersuchungen über die Organisation der Phykochromaceenzelle. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1901, Bd. XXXVI, p. 229.)

Hoffmeister, C., I. Über den mikrochemischen Nachweis von Rohrzucker in pflanzlichen Geweben. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1897, Bd. XXXI, p. 688.)

Hoppe-Seyler, G., I. Beiträge zur Kenntnis der Indigo bildenden Substanzen im Harn usw. (Ztschr. f. physiol. Chem. 1882/83, Bd. VII, p. 403.)

Klein, G., I. Der histochemische Nachweis der Flavone. (Sitzungsber. d. Akad. d. Wiss. i. Wien, Bd. CXXXI, 1922, p. 23.)

Klotsch, I. Über Pseudostearoptene, welche auf der Außenseite der Pflanze vorkommen. (Monatsber. d. Berliner Akad. Dez. 1851.)

Knoll, F., I. Fettes Öl auf den Blütenepidermen der Cypripedilinae. (Österr. bot. Ztschr. 1922, p. 120.)

Knuth, P., I. Über den Nachweis von Nektarien auf chemischem Wege. (Bot. Zbl. 1898, Bd. LXXVI, p. 76.)

Kosmann, I. Journ. Pharm. (2), 1854, Bd. XXVI, p. 107.

Kraus, G., I. Über das Verhalten des Zuckersaftes der Zellen gegen Alkohol und Glyzerin und die Verbreitung des Zuckers. (Bot. Ztg. 1876, p. 604.)

Kretz, F., I. Über den mikrochem. Nachweis von Tryptophan i. d. Pflanze. (Bioch. Ztschr. 1922, Bd. CXXX, p. 86.)

Kroemer, K., I. Wurzelhaut, Hypodermis und Endodermis der Angiospermenwurzel. (Bibliotheca botanica, 1903, Heft 59, p. 9.)

Leitgeb, H., I. Über die durch Alkohol in Dahliaknollen hervorgerufenen Ausscheidungen. (Bot. Ztg. 1887, p. 136.)

Leitgeb, H., II. Der Inhalt der Dahliaknollen an Asparagin und Tyrosin. (Mitteil. a. d. bot. Inst. z. Graz. Heft II, p. 215.)
Linsbauer, K., I. Bemerkungen über A. Fischers „Gefäßglykose". (Sitzungsber. d. Akad. d. Wiss. i. Wien. Abt. I, Bd. CXXIX, S. 215.)
Loew, O., I. Ninhidrin als mikroch. Reagens auf Aminosäuren. (Flora 1918, p. 262.)
Lubarsch, I. Ergebnisse d. allgemeinen Pathologie 1895, Jg. I, Abt. II.
MacDougal, I. On the poisonous influence of Cypripedium spectabile and C. pubescens. (Minnesota Botanical Studies 1894, p. 32.)
—, II. Poisonous influence of various species of Cypripedium. (Ebenda 1895, p. 450.)
Meyer, A., I. Archiv f. Pharm. 1879, III. Reihe, Bd. XV, p. 97.
—, II. Mikrochemische Reaktion zum Nachweis der reduz. Zuckerarten. (Ber. d. deutsch. bot. Ges. 1885. Bd. III, p. 332.)
—, III. Über Geißeln, Reservestoffe, Kerne und Sporenbildung der Bakterien. (Flora 1899, Bd. LXXXVI, p. 440—448.)
Meyer, H., I. Analyse und Konstitutionsermittlung organischer Verbindungen. 2. Aufl. Berlin 1909.
Mikosch, K., I. Vegetabilisches Wachs, in J. Wiesner: Die Rohstoffe des Pflanzenreichs, II. Aufl. 1900, Bd. I, p. 525.
Moebius, M., I. Über Wachsausscheidung im Innern der Zellen. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1897, Bd. XV, p. 435.)
Molisch, H., I. Über ein einfaches Verfahren, Pflanzen zu treiben (Warmbadmethode.) II. Teil. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1909 Bd. CXVIII, Abt. I, p. 686.)
—, II. Grundriß einer Histochemie der pflanzlichen Genußmittel. Jena 1891.
—, III. Zwei neue Zuckerreaktionen. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1886, Bd. XCIII, Abt. II, p. 912.)
—, IV. Zur Kenntnis meiner Zuckerreaktionen. (Zbl. f. med. Wiss. 1887, Nr. 3 u. 4.)
—, V. Eine neue Methode zur Unterscheidung der Pflanzen- von der Tierfaser. (Dinglers polytechn. Journ. 1886, Bd. CCLXI, p. 135.)
—, VI. Über den mikrochem. Nachweis und die Verbreitung gelöster Oxalate im Pflanzenreiche. (Flora 1918, Bd. XI, Neue Folge, p. 60.)
—, VII. Über den Wasserkelch von Aconitum variegatum. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1920, p. 341.)
—, VIII. Über die Ausscheidung von Fetttröpfchen auf einer Apfelfrucht (Malus coriarius). (Ebenda, p. 305.)
Monteverde, N. A., I. Über die Verbreitung des Mannits und Dulcits im Pflanzenreiche. (Refer. Ztschr. f. wiss. Mikroskopie 1892, Bd. IX, p. 544.)
Müller, H., I. The occurrence of flavon as the farina of the Primula. Journ. of the Chem. Soc. London 1915, Bd. CVIII, p. 872—878.
Müller, K., I. Einige Bemerkungen über die harzartigen Ausscheidungen auf den Birken. (Bot. Ztg. 1845, Jg. 3, p. 793.)
Müller, C. O., I. Beitrag zur Kenntnis der Eiweißbildung der Pflanzen. Inaug.-Diss. d. Leipziger Univ. in d. Landwirt. Versuchsstat. 1881, Bd. XXXIII, p. 311.
Nestler, A., I. Hautreizende Primeln. Berlin 1904.
—, II. Die hautreizende Wirkung der Primula mollis Hook. und P. Arendsii Pax. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1908, Bd. XXVI, p. 468.)
—, III. Das Sekret der Drüsenhaare der Gattung Cypripedium mit besonderer Berücksichtigung seiner hautreizenden Wirkung. (Ebenda 1907, Bd. XXV, p. 554.)
—, IV. Myelin und Eiweißkristalle in der Frucht von Capsicum annuum L. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1906, Bd. CXV, Abt. I.)

Nestler, A., V. Cortusa Matthioli L., eine stark hautreizende Pflanze. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1912, Bd. XXX.)

Patschovsky, N., Studien über Nachweis und Lokalisierung, Verbreitung und Bedeutung der Oxalsäure im Pflanzenorganismus. Beih. z. Bot. Zbl., Bd. XXVII, Ab. I.

Pfeffer, W., I. Untersuchung über die Proteïnkörner und die Bedeutung des Asparagins beim Keimen der Samen. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1872, Bd. VIII, p. 533.)

Prantl, K., I. Das Inulin. München 1870, p. 39.

Raciborski, M., 1. Beiträge zur botanischen Mikrochemie. (Bull. d. Akad. d. Wiss. in Krakau. Math.-naturw. Kl. 1906, p. 553.)

Reinbold, B., I. Molisch-Udranskysche α-Naphthol-Schwefelsäure-Reaktion. (Arb. d. ges. Physiol. 1904, Bd. CIII, p. 581.)

Reinitzer, F., I. Mon. Chem. Bd. IX, p. 421.

Sachs, J., I. Über einige neue mikrochemische Reaktionsmethoden. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1859 und Flora 1862, p. 289.)

Sachs, J., II. Über die Sphärokristalle in inulinhaltigen Geweben als Mittel zur mikroskopischen Nachweisung dieses Stoffes. (Bot. Ztg. 1864, p. 77 u. 85.)

Schimper, A. F. W., I. Zur Frage nach der Assimilation der Mineralsalze durch die grüne Pflanze. (Flora 1890.)

Schulze, E., I. Ztschr. f. physiol. Chemie 1896, Bd. XXII, p. 411; 1897, Bd. XXIV, p. 18.

Schulze, E. u. Umlauft, II. Landwirtsch. Versuchsstationen 1875, Bd. XVIII, p. 1.

Semler, Fr. W., I. Annalen d. Chem. u. Pharm. 1887, Bd. CCXLI, p. 92.

Senft, E., I. Über den mikrochemischen Zuckernachweis durch essigsaures Phenylhydrazin. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1904, Bd. CXIII, Abt. I, p. 3.)

—, II. Über die Myelinformen bildende Substanz im Ginkgo-Samen. (Pharm. Post. Wien 1907.)

Sernander. R., I. Entwurf einer Monographie der europäischen Myrmecochoren. Upsala 1906.

Simon, M., I. Über das Balanophorin I. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien, 1910, Bd. CXIX, Abt. II, p. 1161.)

Solla, R. F., I. Über zwei wahrscheinlich mikrochemische Reaktionen auf Schwefelcyanallyl. (Bot. Zbl. 1884, Bd. XX, p. 342.)

Stahl, E., Pflanzen und Schnecken. Jena 1888. Sonderabdruck a. d. Jenaischen Ztschr. f. Naturw., Bd. XXII, N. F. XV.

Stoklasa J. u. Ernest, A., Beitr. z. Lösung der Frage der chemischen Natur des Wurzelsekretes. Jahrb. f. w. Bot. 1909, Bd. XLVI, p. 55.

Trommer, I. Liebigs Ann. 1841, Bd. XXXIX, p. 360.

Tunmann, O., I. Zur Mikrochemie des Inulins. (Ber. d. Deutschen pharm. Ges. 1910, Bd. XX, p. 577; Refer. i. Chem. Zbl. 1911, Jg. 82, p. 496.)

—, II. Zur Mikrochemie und Mikrosublimation einiger Methanderivate. (Apotheker-Ztg. 1912, Nr. 99/100 (Berlin).

—, III. Nat.-Vers. Karlsruhe 1911.

—, IV. Pflanzenmikrochemie 1913, p. 373.

Udransky, L. v., I. Ztschr. f. physiol. Chemie 1888, Bd. XII, p. 358.

Virchow, R., I. Arch. f. path. Anat. u. Phys. 1866, Bd. XXXVI, p. 303.

Vogl, A. v., I. Pharmakognosie, p. 128.

Vogl, A., I. Untersuchungen über das Vorkommen von Allantoin im Rhizom von Symphytum offic. u. anderen Borragineen. Pharm. Post 1918.

Voigt, A., I. Lokalisierung des ätherischen Öles in den Geweben der Allium-Arten. (Jahrb. d. Hamburgisch-wissensch. Anstalten VI. Arb. d. bot. Mus. 1889; Refer. i. Bot. Zbl. 1890, XLI, p. 292, u. Ztschr. f. wiss. Mikroskopie 1890, Bd. VII, p. 110.)
Wertheim, J., I. Annal. d. Chem. u. Pharm. 1844, Bd. LI, p. 289.
Wiesner, J., I. Über die kristallinische Beschaffenheit der geformten Wachsüberzüge pflanzlicher Oberhäute der Epidermis. (Bot. Ztg. 1876, Jg. 34, p. 225.)
—, II. Beobachtungen über die Wachsüberzüge der Epidermis. (Bot. Ztg. 1871, Jg. 29, p. 769.)
—, III. Anatomie und Physiologie der Pflanzen. V. Aufl. Wien 1906, p. 111.
Zellner, J., I. Chemie der höheren Pilze. Leipzig 1907.
Zimmermann, A., I. Die botanische Mikrotechnik. Tübingen 1892, p. 70.
Zopf, W., I. Zur Kenntnis der Sekrete der Farne. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1906, Bd. XXIV, p. 264.)

b) Aromatische Reihe.

I. Phenole.

Eugenol, $C_{10}H_{12}O_2$.

1. Ein Tropfen Eugenol färbt sich auf dem Objektträger mit konzentrierter Schwefelsäure momentan intensiv braunrot, nach einiger Zeit violett.

2. Konzentrierte Salpetersäure färbt den Eugenoltropfen feuer- oder orange- bis braunrot. So verhält sich auch das Nelkenöl.

3. Gesättigte Kalilauge gibt mit einem Eugenoltropfen alsbald einen Kristallbrei von Kaliumeugenolat (Molisch I, 40 und 44).

Die angeführten Reaktionen gelingen auch mit den an Nelkenöl bzw. Eugenol so reichen Schnitten von Gewürznelken sehr gut. Bringt man auf solche Gewebeschnitte einen Tropfen gesättigter Kalilauge — es ist durchaus notwendig, das Reagens im gesättigten Zustande anzuwenden, da im verdünnten keine Kristalle entstehen —, so sieht man zuerst keine wesentlichen Veränderungen, nach einigen Minuten aber wachsen aus jedem Öltropfen rasch zahlreiche, oft recht lange, säulen- oder nadelförmige, farblose Kristalle von Kaliumeugenolat heraus, die im polarisierten Lichte prächtig aufleuchten (Molisch I, 40 und 44.

Vorkommen.

In zahlreichen ätherischen Ölen: Pimentöl (Frucht von Pimenta officinalis Bg.), Gewürznelkenöl (Blütenknospen von Caryophyllus aromaticus L.), Kalmusöl (Acorus Calamus), Lorbeerblätteröl (Laurus nobilis), Ocimum Basilicum-Öl, im Patschouliöl (Pogostemon Patchouly Pellett.) und anderen. In der Wurzel von Geum urbanum liegt Eugenol in glykosidischer Bindung vor, aus der es enzymatisch abgespalten wird.

Phloroglucin, $C_6H_3(OH)_3 + 2H_2O$.

1. Nach Weselsky (I) gibt Phloroglucin in verdünnter Lösung mit salpetersaurem Toluidin und wenig salpetrigsaurem Kalium nach einiger Zeit eine gelbliche, dann orangerote Färbung und schließlich

scheidet sich ein zinnoberroter Niederschlag ab. Diese Reaktion zeigen aber auch andere Phenole (Cazeneuve und Hugounenq I).

2. Eine frisch bereitete Lösung von 0,005 g Vanillin in 0,5 g Spiritus + 0,5 g Wasser und 3,0 g konzentrierter Salzsäure gibt mit Phloroglucin eine hellrote Färbung. Das Reagens hält sich etwa 6 bis 8 Tage (Lindt I). 0,000001 g trockenes Phloroglucin soll bei Zutritt eines Reagenztropfens noch sofort erkennbar sein. Aber auch diese Reaktion ist nicht eindeutig für Phloroglucin, denn auch Eugenol, Guajacol, Orcin, Pyrogallol, Resorcin, Safrol, Thymol und noch andere Körper zeigen dieselbe, wenn auch in etwas anderen Tönen (Hartwich und Winckel I).

3. Nach Wiesner (I) färben sich verholzte Gewebe mit einer Phloroglucinlösung (etwa 1%) nach Zusatz von konzentrierter Salzsäure rotviolett. Er prüfte auch Pyrogallussäure. Resorcin und Brenzkatechin auf ihr Verhalten zu verholzten Geweben. Pyrogallussäure gibt die Reaktion nicht und Lösungen von Brenzkatechin oder Resorcin färben Holz bzw. Holzstoff nach Zuführung von Salzsäure blau mit einem Stich ins Violette.

4. Eine Lösung von p-Dimethylaminobenzaldehyd in Schwefelsäure wurde von Joachimowitz (I) als ein vortreffliches, die Lindtsche Vanillin-Salzsäureprobe an Empfindlichkeit übertreffendes Reagens erkannt. Am geeignetsten erwies sich die Zusammensetzung: 0,5 g p-Dimethylaminobenzaldehyd gelöst in 8,5 g konz. Schwefelsäure und 8,5 g Wasser.

Wird zu einem Körnchen Phloroglucin ein Tropfen dieser Lösung hinzugefügt, so färbt es sich sogleich intensiv rot. So verhält sich nicht bloß freies Phloroglucin, sondern auch seine Derivate (wenn auch nicht alle), besonders schön die als Inklusen häufig vorkommenden Phloroglykotannoide. So wie Phloroglucin verhält sich aber auch Katechin, die geschilderte Reaktion ist also nicht eindeutig.

Andere Phloroglucinreaktionen, die in der Literatur angegeben werden, kommen nach meinen Erfahrungen für den Mikrochemiker nicht in Betracht.

Mit Hilfe der Weselskyschen Reaktion versuchte v. Weinzierl Phloroglucin makro- und mikrochemisch in vielen phanerogamen Pflanzenfamilien nachzuweisen und er gelangt zu dem Resultate, daß dieser Körper sehr verbreitet sein dürfte und besonders im Phellogen der Rinde seinen Sitz hat.

Wenn es sich um den Nachweis kleiner Mengen handelt, hält Lindt die Weselskysche Reaktion für nicht befriedigend, da sie sich zu langsam einstellt und das Phloroglucin sich während der Reaktionszeit über den ganzen Schnitt verteilt, so daß über den ursprünglichen Sitz des Phloroglucins nichts ausgesagt werden kann. Er empfiehlt daher anstatt der Reaktion von Weselsky die mit Vanillin-Salzsäure. Diese tritt sehr rasch ein, nur muß man dafür sorgen, daß die Schnitte abgetrocknet zur Verwendung kommen, da Wasser den Eintritt der Reaktion verzögert und deren Intensität schwächt. Da sich auch Orcin und Resorcin ähnlich verhalten — Phloroglucin färbt sich hellrot, Orcin und Resorcin violettrot — so ist eine Unterscheidung unter gewöhnlichen Umständen nicht möglich. Wendet man aber das Vanillin in sehr verdünnter Lösung, im Verhältnis von 1:1000 an, so tritt nach

Lindt eine Farbenreaktion nur noch bei Phloroglucin und Orcin ein, nicht aber bei Resorcin. Phloroglucin löst sich in dem Reagens hellrot, später etwas violettrot werdend, Orcin hingegen hellblau, mit einem Stich ins Rote. Nach dem Gesagten ist die Probe mit Vanillinsalzsäure für Phloroglucin nicht eindeutig, man wird daher in positiven Fällen nur auf Phenole schließen dürfen.

Eine der besten Reaktionen ist die von Wiesner, unter 3 angeführte. In historischer Beziehung sei darüber folgendes bemerkt. v. Höhnel (I) zeigte, daß ein wässeriger oder weingeistiger, aus Kirschholz bereiteter Extrakt mit einem verholzten Gewebe und Salzsäure zusammengebracht, das Gewebe rotviolett färbt. Er nannte den fraglichen, im Kirschholzextrakt befindlichen Körper, der die violette Farbe bedingte, Xylophilin. Wiesner hat dann die wichtige Tatsache festgestellt, daß Xylophilin mit Phloroglucin identisch ist und daß das Phloroglucin dieselbe Reaktion wie das Xylophilin gibt. Man kann daher nach Wiesner verholzte Gewebe, oder genauer gesagt, den Holzstoff (Lignin) bei Anwendung von Salzsäure als höchst empfindliches Reagens auf Phloroglucin betrachten, vorausgesetzt, daß Resorcin und Brenzkatechin nicht vorhanden sind, da sie ähnliche Reaktionen geben.

Zahlreiche verholzte Gewebe färben sich auf Zusatz von Salzsäure allein rotviolett, dies geht schon aus älteren Beobachtungen von Wigand (I) und anderen Forschern, namentlich aber aus zahlreichen Untersuchungen v. Höhnels hervor. Der letztere konnte, als er daraufhin 281 Pflanzenarten untersuchte, bei 143 Xylophilin nachweisen. Wigand nannte den die rotviolette Färbung hervorrufenden Stoff Cyaneogen, v. Höhnel Xylophilin, und Wiesner erkannte, wie bereits bemerkt, das Phloroglucin als den im Xylophilinextrakte wirksamen Bestandteil. Die Rotvioletfärbung mit Salzsäure allein tritt z. B. ein in den verholzten Geweben von Coniferen, Aroideen, Cupuliferen, Moreen, Hippocastaneen, Ampelideen, Euphorbiaceen, Oenothereen, Polygoneen, Acerineen, besonders aber bei Pomaceen, Amygdaleen, Myrtaceen, Melastomaceen und anderen. Daraus darf auf die weite Verbreitung des Phloroglucins (oder verwandter Phenole) geschlossen werden, doch sagt die mikrochemische Untersuchung nichts darüber aus, ob das Phloroglucin frei vorliegt oder in glykosidischer oder anderer Bindung, da durch Salzsäure, z. B. aus den Phlorogluciden leicht Phloroglucin abgespalten wird.

Waage (I) hat mit der Vanillinsalzsäure-Reaktion auch zahlreiche Pflanzen mikrochemisch untersucht und kommt gleichfalls zu dem Resultate, daß Phloroglucin ein weit verbreiteter Körper ist. Von 185 genauer untersuchten Pflanzen enthielten nach Waage 135 Phloroglucin, und zwar 51 reichlich, 41 mittel, 43 wenig und 50 keines. Dies entspricht 73 bzw. 27%. Gehölze enthalten gewöhnlich häufiger Phloroglucin als Kräuter. Waage fand es gewöhnlich im Zellinhalt. Es kann auftreten in der Oberhaut, im Phellogen, Rindenparenchym, Sklerenchym, Phloemparenchym, Kambium, Mark und anderen Geweben.

Die umfassendsten Untersuchungen über die Verbreitung des Phloroglucins und seiner Abkömmlinge stellte Joachimowitz (I) mit ihrem Reagens an. Sie untersuchte 464 Pfanzen aus allen Pflanzenstämmen und dabei ergab sich die interessante Tatsache, daß die Algen, Pilze und Flechten niemals Phloroglucin führen und daß dieser Körper ebenso

wie das Lignin erst bei den Pteridophyten (Farnen) auftaucht. Besonders reich an Phloroglucin sind z. B. die Theaceae, Geraniaceae, Crassulaceae, Rosaceae, Leguminoseae u. a.

Hier sei noch der sogenannten Phloroglykotannoide gedacht, die als glykosidische Tannoide zu betrachten sind, in denen der Zucker durch Phloroglucin ersetzt erscheint. Sie sind in den verschiedensten Organen weit verbreitet und geben so wie Gerbstoffe Veranlassung zur Bildung von Phlobaphenen. Als solche Phloroglykotannoide sind nach Hartwig und Winkel die von Tichomirow (I) als Inklusen bezeichneten Inhaltskörper der Zellen mancher Früchte aufzufassen. Sie finden sich in den Früchten von Ceratonia Siliqua, Rhamnus cathartica (Flückiger I), Phoenix dactylifera (Braun I, Hanausek I), Rhamnus-, Sorbus-Arten, Mespilus germanica (Hanausek II), in der Samenschale des Piments (Schimper I), Diospyros- und Anona-Arten (Tichomirow II), Chimaphila, Pirola chlorantha, Vaccinium oxycoccos, Apocynum venetum (Netolitzky I), Tamarinden und anderen. Seit langem bekannt sind die Inklusen von Ceratonia. Sie bilden große rötlichbraune, eigentümlich gerunzelte Klumpen in vielen Zellen des Fruchtfleisches. Sie sind in Wasser, Alkohol, verdünnter Schwefelsäure und Essigsäure unlöslich und färben sich mit verdünnter Kalilauge zunächst grün, dann graublau, beim Erwärmen violett. Mit starker Kalilauge werden sie dunkelblau, mit Vanillinsalzsäure rot. Die Inklusen der verschiedenen Pflanzen geben z. B. mit Eisensalzen nicht immer übereinstimmende Reaktionen, sie werden auch nicht immer identisch sein, gegenüber Kalilauge, Vanillinsalzsäure und p-Dimethylaminobenzaldehyd verhalten sie sich aber so ziemlich übereinstimmend. Die Blattgelenke der Mimosa pudica, anderer Mimosa-Arten und der Oxalideen zeichnen sich durch das Vorkommen zahlreicher großer Gerbstoffvakuolen aus. Wie Molisch (V) gezeigt und Joachimowitz (I) bestätigt hat, stellen diese mit den sogenannten Inklusen anderer Pflanzen chemisch nah verwandte Gebilde dar, insofern beide aus Phloroglykotannoiden bestehen, denen sich auch Katechinderivate zugesellen können.

Asaron, $C_{12}H_{16}O_3$.

Asaron wird von konzentrierter Schwefelsäure rotorange gelöst. Es findet sich hauptsächlich im Rhizom und in der Wurzel von Asarum europaeum vor. Der Querschnitt durch das frische, an der Oberfläche des Bodens kriechende Rhizom zeigt in der Epidermis, dem peripheren Grundgewebe und dem Marke zahlreiche parenchymatische Zellen, die entweder ganz von einem einzigen oder zwei bis mehreren Tropfen einer fast farblosen, stark lichtbrechenden öligen Substanz erfüllt sind. Wird ein Tropfen konzentrierter Schwefelsäure zu dem Schnitte zugesetzt, so färben sich die öligen Tropfen zuerst gelblich, dann rein gelb und zuletzt orange (Borščow I). So gibt es Borščow an, ich aber finde, daß sich der Inhalt der Asaronzellen allerdings so färbt, zuletzt aber blut-, granat- oder braunrot.

Das Asaron ist wahrscheinlich in den erwähnten Zellen in einem ätherischen Öl gelöst. In reinem Zustande stellt es farblose, monokline Kristalle dar, unlöslich im kalten Wasser, leicht löslich in Alkohol, Äther, Chloroform oder Eisessig.

Neben den Asaronzellen finden sich noch andere Sekretzellen im Wurzelstocke, die sich durch ihren dicklichen, ziemlich homogenen, schön weinroten oder hellbräunlichen Inhalt auszeichnen. Der darin enthaltene rote Farbstoff verhält sich nicht wie echtes Anthokyan, denn er färbt sich mit verdünnter Kalilauge schmutzig gelbbraun. Sie ähneln Inklusen und werden am besten zur Anschauung gebracht, wenn man sie auf einem Tangentialschnitt durch das subepidermale Kollenchym betrachtet. Sie erscheinen dann als mehr oder minder gestreckte, meist rot gefärbte Zellen. Ähnliche Sekretzellen finden sich auch an der äußeren Peripherie der Leitbündel und vereinzelt auch im Marke. In der Nähe der Gefäßbündel oft so reichlich, daß sie auf dem frischen Schnitte schon dem freien Auge als ein dunkler Kreis kenntlich werden.

Vorkommen.

Abgesehen von Asarum europaeum wurde Asaron auch im Kalmusöl (Acorus Calamus), im Maticoöl (Piper angustifolium) und im Blatt- und Wurzelöl von Asarum arifolium gefunden.

Sphagnol.

Die Zellhäute vieler Moose (Marchantia polymorpha, Sphagnum, Fontinalis antipyretica u. a.) geben die Millonsche Probe mit kirschrotem Farbenton. Die Ursache dieser Färbung scheint ein phenolartiger Körper zu sein, den Czapek (I, 365) aus Sphagnum acutifolium einigermaßen rein dargestellt und Sphagnol genannt hat.

Das in Kristalldrusen gewonnene Sphagnol ist in Wasser und Alkohol leicht löslich, unlöslich in Äther, leicht löslich in Alkalien und durch Säuren daraus wieder fällbar. Mit Millonschem Reagens färbt es sich kirschrot. In der intakten Zellmembran dürfte das Sphagnol chemisch gebunden sein und möglicherweise als Sphagnolzelluloseäther vorliegen. Es ist stark giftig und dient vielleicht als Schutzstoff.

II. Säuren.

Tyrosin, $HOC_6H_4 \cdot CH_2 \cdot C \begin{matrix} H \\ CO_2H \\ NH_2 \end{matrix}$

1. Borodin (I u. II) hat in derselben Weise, wie er dies für Asparagin getan hat, auch Tyrosin nachgewiesen. Er legte die Schnitte in Alkohol, bedeckte mit einem Deckglas und ließ den Alkohol verdampfen. Auf diese Weise erhielt er am Deckglasrande z. B. mit den jungen etiolierten Blättern von Solanum tuberosum neben Asparaginkristallen kleine nadelförmige, teils einzelnliegende, teils zu pinselförmigen Büscheln vereinigte Kristalle, die in einer warmgesättigten Tyrosinlösung unverändert blieben und sich auch sonst als Tyrosin erwiesen.

Die Tyrosinkristalle (Fig. 53) lösen sich schwer in kaltem (ein Teil löst sich in 2491 Teilen von 17 °), leichter in heißem Wasser. Sie sind unlöslich in Aceton, Äther und absolutem Alkohol, ziemlich leicht löslich in Ammoniak, Alkalien und Alkalikarbonaten, leicht löslich in verdünnten Mineralsäuren und schwer löslich in Essigsäure. Wenn Borodin die Tyrosinnatur der Kristalle in gesättigter Tyrosinlösung prüft, so wird wohl zu beachten sein, daß die Tyrosinkristalle an und für sich in kaltem Wasser schwer löslich sind und es ist fraglich, ob in diesem Falle die Borodin'sche Methode zu sicheren Schlüssen führt

2. Aceton. Nach meinen Erfahrungen leistet Aceton bessere Dienste als Alkohol. Die Tyrosinkristalle scheiden sich in Aceton viel rascher und viel reichlicher ab.

3. Tyrosinkristalle färben sich namentlich bei gelindem Erwärmen mit Millons Reagens rot.

4. Leitgeb (I, 229) fand, daß beim Zusetzen von Salpetersäure zu Tyrosin und nachherigem, vorsichtigem Verdampfen ein gelb gefärbter Rückstand übrig bleibt. Setzt man dann Natronlauge hinzu, so färbt sich die Flüssigkeit rotgelb und beim Verdunsten derselben erscheinen kristallinische, rotbraun gefärbte Ausscheidungen. Leitgeb spricht sich über diese Ausscheidungen nicht weiter aus; ich möchte daher betonen, daß die entstehenden Kristalle in Farbe und Form sehr charakteristisch sind und daß sie zur Erkennung von Tyrosin, wenn es sich in größerer Menge vorfindet, sehr gute Dienste leisten können. Es sind entweder Nadeln, Prismen mit abgerundeten Enden, oder es sind stern- oder sphäritartige Aggregate von braunroter Farbe oder Aggregate, bestehend aus spießigen oder messerartigen Formen von prachtvoll chromgelber oder karotinartiger Farbe. Leider habe ich diese Kristallformen nur mit reinem Tyrosin, aber nie im Gewebe erhalten.

Fig. 53.
Tyrosinkristalle aus einer wässerigen Lösung. Vergr. 80.

Vorkommen.

Tyrosin findet sich als wichtiges Abbauprodukt der Eiweißkörper nicht gerade selten vor, aber gewöhnlich nicht in größerer Menge. Borodin (I, 816) fand diesen Körper nebst Asparagin in unentwickelten Blättern eines etiolierten Kartoffelsprosses, später in ebensolchen Sprossen, die, abgeschnitten ins Wasser gestellt, einige Zeit verdunkelt wurden und in etiolierten Sprossen verschiedener Papilionaceen. Ausnahmsweise traf er diese Aminosäure in Blättern junger normaler Exemplare von Dahlia variabilis in so großen Mengen vor, daß er nach Anwendung von Alkohol ganze „Gebüsche der haarförmigen, oft dendritisch gruppierten Kristalle“ erhielt. Später konnte Borodin diesen Körper bei anderen Varietäten derselben Art nicht auffinden. Leitgeb fand Tyrosin häufig in den Knollen von Dahlia variabilis, doch scheidet sich das Tyrosin oft nur unter ganz besonderen Bedingungen ab, da es in Schnitten wahrscheinlich wegen seiner geringen Menge und infolge ungünstiger Kristallisationsbedingungen in Kristallform nicht erscheint. Schafft man jedoch Verhältnisse, unter denen der Körper nach einzelnen Kristallisationspunkten zuströmt, so kommt er dann zur Ausscheidung. Um dies zu erreichen, wird nach Leitgeb (I, 228) eine durch einen Querschnitt gewonnene Knollenhälfte aufrecht in ein der Knolle angepaßtes Gefäß gestellt und dieses so weit mit Alkohol gefüllt, daß wenigstens ein Drittel der Knolle mit dem Querschnitt über den Alkohol emporragt. Meist schon nach 2 Tagen tritt neben Inulin das Tyrosin so reichlich auf, daß man es auch makroskopisch wahrnehmen kann.

Ferner wurde Tyrosin nachgewiesen in Keimpflanzen von Vicia sativa, Lupinus luteus und albus, Tropaeolum majus, ferner in der Steckrübe (Brassica Rapa), in den Knollen von Stachys tuberifera, in der Sellerie (Apium graveolens), in unreifen Samen von Phaseolus vulgaris, Pisum sativum, in der grünen Hülse der Bohne und im Zuckerrübensaft (Abderhalden).

Schon aus den Befunden von Borodin und Leitgeb geht hervor, daß bei Dahliasprossen Tyrosin bald auftritt, bald nicht, und Ähnliches wurde auch bei Keimlingen konstatiert. So konnte weder Schulze (I) noch Wassilieff (I) aus Lupinus albus Tyrosin darstellen, während es Bertel (I) bei Sauerstoffentzug oder Narkose angeblich reichlich fand. Das wechselnde Auftreten dieser Aminosäure scheint demnach mit ganz bestimmten Ursachen zusammen zu hängen. Das massenhafte Auftreten von Tyrosin in der Wurzel der Lupine, wie es Bertel unter den erwähnten Bedingungen beobachtet hat, ist jedenfalls bemerkenswert und sollte weiter verfolgt werden. Wenn 2—3 Tage alte Lupinenkeimlinge (L. albus) mittels einer Wasserstrahlluftpumpe unter Wasser injiziert wurden, so schieden sich stets in der Wurzel und im Hypokotyl zahlreiche gelblichweiße, bis 10 μ große Tyrosinsphärite ab (Fig. 54). Dasselbe wurde nach der Einwirkung gewisser Narkotika (Chloroformdampf, Chloroformwasser, Benzol, Toluol, Alkohol, Äther) und Natriumbisulfit (5%) schon nach 2—3 Stunden erzielt. Die Sphärite schieden sich im Gewebe vom Hypokotyl bis in die Wachstumszone der Wurzel ab, dann erleidet die Abscheidung eine Unterbrechung und tritt in der Wurzelspitze wieder auf. Auch in der Plumula erscheinen die Sphärite, hingegen nicht in der Wurzelhaube. Bertel ist der Meinung, daß die Tyrosinbildung noch in der lebenden Zelle einsetzt, daß durch die Narkose die Tätigkeit des proteolytischen Enzyms, welches Tyrosin aus dem Eiweiß abspaltet, nicht unterbrochen wird und daß das Tyrosin, da es in der Narkose nicht weiter verwendet wird, angehäuft werden muß. Nach 24 Stunden stellt sich wieder eine Abnahme und nach etwa 3—4 Tagen ein völliges Verschwinden der Sphärite ein, weil es nach Bertel durch ein Enzym weiter verarbeitet werden soll.

Fig. 54.
Tyrosin(?)warzen im Wurzelparenchym eines 5 Tage alten, etiolierten Keimlings von Lupinus sp. nach $^1/_2$stündigem Aufenthalt im Chloroformdampf. Vergr. 180.

Auffallend ist, daß bei anderen Keimlingen die Tyrosinanhäufung nicht erzielt werden konnte und es bedarf weiterer Untersuchungen darüber, ob speziell bei Lupinus nicht durch die Narkose eine abnorme Steigerung der Tyrosinbildung eingeleitet wird.

Über das rasche und massenhafte Erscheinen der Sphärite während der Narkose kann kein Zweifel sein. Ich erhielt die Sphärite bei Wurzeln von 2—3 cm Länge schon nach 10 Minuten, allein ich konnte mich doch eines gewissen Zweifels nicht erwehren, daß in den Sphäriten der Bertelschen Versuche wirklich Tyrosin vorliegt,

da ja Tyrosin gewöhnlich nicht in Sphäriten, sondern in Nadeln, Garben und Büscheln kristallisiert (Fig. 54). Auch kann man die Sphärite selbst mit Millonschem Reagens nicht rot färben, weil sie sich darin sofort lösen, und aus einer nachträglichen Rotfärbung der Lösung darf man nicht ohne weiteres schließen, daß die Rotfärbung von den Sphäriten selbst herrührt.

Bertel spricht stets von Sphäriten, ihr Aussehen erinnert aber häufig mehr an Warzen mit höckeriger Oberfläche. In polarisiertem Lichte leuchten sie auf und zeigen ein dunkles Kreuz.

Mit Millons Reagens werden alle unverholzten, nicht allzu jungen Zellwände der Bromeliaceen rot. Diese Tatsache wurde von einigen Forschern auf Eiweiß (Wiesner, Krasser), von anderer Seite (A. Fischer, Correns und Saito) auf Tyrosin zurückgeführt. Vielleicht ist diese Reaktion durch keinen dieser Stoffe bedingt, sondern durch einen noch unbekannten Körper.

Ferulasäure, Kaffeesäuremonomethyläther.

Wurde in Asa foetida, im Überwallungsharze von Pinus Laricio und im Umbelliferen-Opoponax aufgefunden.

Nachweis.

Tunmann (II) gelang zuerst die Mikrosublimation aus Asa foetida. Bei Verwendung von 0,05 g erhält man ein weißes Sublimationsfeld, das je nach der angewandten Harzmenge und der Temperatur aus kleinen Körnchen, Prismen, Rosetten, Dendriten oder stumpfen Prismen besteht, an deren Enden sich kleinere Kristalle pinsel- oder strauchartig ansetzen (Fig. 55).

Fig. 55.
Ferulasäure-Kristalle, gewonnen durch Mikrosublimation aus Asa foetida. Vergr. 250.

Eigenschaften der Kristalle. Farblos, in heißem Wasser, Alkohol, Äther löslich, in Schwefelsäure mit gelber Farbe. Mit einem Tropfen Kaliumpermanganatlösung erwärmt, entwickelt sich starker Vanillingeruch. Mit Phloroglucinsalzsäure werden die Kristalle sogleich tiefrot gelöst. Tunmann (V) untersuchte Keimpflänzchen von Ferula Narthex Boiss., und konnte die Ferulasäure durch diese Rotfärbung nur in den Milchsaftgängen feststellen.

Benzoesäure, $C_7H_6O_2$.

Vorkommen.

In der Frucht der Preißelbeere (Vaccinium Vitis idaea L.) und der Moosbeere (Vaccinium Oxycoccus L.), in den Blättern von Pinguicula vulgaris, im Sekrete von Utricularia, im Benzoeharz, Peru-, Tolubalsam, ätherischen Ölen usw. (Dohrn und Thiele I, 1185). Sie kommt entweder frei (Preißelbeere) oder als Ester mit Benzyl-, Äthyl- und Zimtalkokol vor (verschiedene Harze).

Eigenschaften. Dünne rektanguläre oder quadratische Täfelchen, lange rechtwinkelige Prismen oder federartige Aggregate (Fig. 56). Monoklin. Schwer löslich im Wasser, sehr leicht in Äther, Chloroform, Benzin und Alkohol. Aus Chloroform erhält man Ranken, aus Benzol moosähnliche Häufchen von Blättchen und Nadeln, aus heißem Wasser Rauten oder rechtwinkelige Blättchen. Schmelzpunkt 121°, sublimiert leicht. Die Benzoesäure wird aus der wässerigen Lösung ihrer Salze durch Säuren leicht ausgeschieden.

Nachweis.

1. Sublimation. Zum mikrochemischen Nachweis bediente sich NESTLER (I) mit Vorteil der Mikrosublimation. Man erhält aus einer einzigen zerkleinerten Frucht der Preißelbeere einen starken Beschlag von Benzoesäurekristallen (Fig. 56). Sie lösen sich leicht in Natronlauge ($^n/_{10}$). Fügt man zu dieser Lösung etwas Salz-, Salpeter- oder Essigsäure, so scheidet sich die Benzoesäure vorherrschend in Dendriten und außerdem langgestreckten Kristallfedern aus, die aus vielen, annähernd in gleicher Richtung aneinander gereihten rechtwinkeligen Lamellen bestehen (HAUSHOFER I). Die von NESTLER eingeführte Mikrosublimation der Benzoesäure ist auch für die Praxis wichtig, weil sie sicher ist und schon mit kleinen Quantitäten von Stoffen (Marmelade, Fett usw.) gelingt.

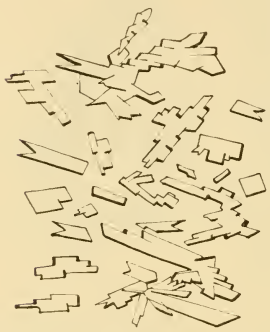


Fig. 56.
Benzoesäure-Kristalle durch Sublimation aus den Früchten der Preißelbeere (Vaccinium Vitis idaea L.) gewonnen. Vergr. 120.

2. Silberbenzoat (HAUSHOFER I, 72, BEHRENS I, 72). Lösungen von freier Benzoesäure geben mit Silbernitrat keinen Niederschlag. Auf Zusatz von Natriumacetat entstehen Häufchen und Büschel kurzer Nadeln, mit bräunlicher Farbe durchscheinend.

Wird Silbernitrat mit einer Lösung von Ammoniumbenzoat oder schwach ammoniakalische Silberlösung mit freier Benzoesäure zusammengebracht, so bildet sich ein weißer Niederschlag, und bald darauf entstehen Büschel von sehr dünnen, langen, schwach polarisierenden Blättchen (800—1000 μ), Blättern von Gräsern ähnlich. In Ammoniak verschwinden sie sogleich, treibt man das Ammoniak unter Ersatz des Wassers aus, so erscheinen die Kristalle in gekrümmten, arabeskenartigen Fäden. Verdünnte Lösungen eines benzoesauren Salzes geben mit Silbernitrat alsbald einen Kristallniederschlag: zunächst ein wirres, wolliges Haufwerk schmaler, sehr dünner, oft gekrümmter Lamellen. An ihren freien Enden tritt häufig ein spitzer Winkel von etwa 40—50° auf. Sie löschen parallel ihrer Längsachse aus, polarisieren aber nur mäßig. Später tauchen kleine Rauten auf, deren Auslöschungsrichtungen diagonal liegen. — Obwohl es nicht möglich ist, die Benzoesäure direkt in der Zelle nachzuweisen, so konnte sich doch NESTLER mit Hilfe der Sublimationsmethode überzeugen, daß die Benzoesäure in der Frucht der Preißelbeere sowohl an der Außenseite der Epidermis als auch im

Innern der Oberhautzellen, im Fruchtfleische und in den Samen vorkommt, also die ganze Frucht durchdringt.

Betuloretinsäure, $C_{36}H_{66}O_5$.

Die jungen, sich eben entwickelnden Triebe von Betula alba und anderen Arten, insbesondere von Betula pubescens sind an den Achsen, Blattstielen und Blattspreiten mit kleinen Wärzchen versehen, die mit einem oft weißlichen, klebrig-harzigen Überzuge bedeckt erscheinen. Die Wärzchen stellen, wie Mikosch (I) gezeigt hat, echte Trichome dar, die schon in der Knospe zu beobachten sind. Sie fungieren als Drüsen und scheiden eine blaßgelbliche, sirupdicke Masse aus, aus der sich nach der Entwicklung des Blattes die Betuloretinsäure in fester amorpher Form absondert.

Diese Harzsäure schmilzt bei 94°; ist unlöslich in Wasser, leicht löslich in Alkohol, Äther, Ammoniak und wässerigen Alkalien. Mit konzentrierter Schwefelsäure gibt sie eine rote Lösung (Kosmann I). Schnitte durch junge Blätter färben sich mit Schwefelsäure zuerst gelbbraun, schließlich rot, rotviolett oder ziegelrot. Irgendwelche charakteristische, mikrochemisch verwertbare Reaktionen sind nicht bekannt.

Zimtsäure, $C_6H_5 \cdot CH : CHCO_2H$,

kommt vor teils frei, teils als Ester in flüssigem Storax, Tolubalsam, Perubalsam, Guttaperchaharz, in der Aloë, im gelben Xanthorrhoëaharz, im Cassiaöl, in den Blättern und Stengeln von Globularia alypum, in G. vulgaris, in den Blättern von Cinnamomum und Myrospermum (Dohrn u. Thiele I, 1230).

Nachweis.

Wiesner (III, 178) hat bereits im Jahre 1869 aus dem Storax Zimtsäure unterm Deckglas sublimiert. Genauere Daten über die Mikrosublimation der Zimtsäure verdanken wir Tunmann (VI). Von reiner Zimtsäure gewinnt man leicht schön kristallisierte Sublimate: Nadeln, Blättchen, einzeln oder miteinander verwachsen, zuweilen an Asparaginkristalle erinnernd. Dieselben oder ähnliche Kristalle lassen sich aus Balsam von Liquidambar, von Myroxylon toluifera und M. balsamum gewinnen. Da in den Harzen neben der Zimtsäure häufig auch Benzoesäure vorkommt, so erscheint die letztere auch im Sublimat und man muß sich daher vor Verwechslung hüten. Die Unterscheidung der beiden Säuren ist leicht. Die Benzoesäure erscheint in den Sublimaten zuerst, die Zimtsäure später. Die Zimtsäure löst sich in Wasser, die Benzoesäure auch, aber viel langsamer. Die Kristalle der Zimtsäure und ihrer Ester leuchten bei gekreuzten Nicols prächtig in allen Farben auf und besitzen schiefe Auslöschung. Die Kristalle der Benzoesäure erscheinen unter denselben Verhältnissen nur grau, löschen nicht vollständig aus und zeigen keine gute Ausbildung, so daß man bei gewöhnlicher Beleuchtung stark abblenden muß, um ihre Formen zu erkennen. Die Benzoesäure verflüchtigt sich aus dem Sublimat nach einigen Tagen vollständig.

Setzt man zu dem Sublimat Silbernitrat hinzu, so werden die Kristalle der Zimtsäure und ihrer Ester unansehnlich, zum Teil braun, leuchten im polarisierten Licht nicht mehr so prächtig, sondern nur

grau auf und gehen großenteils in Lösung. Die Kristalle der Benzoesäure lösen sich zwar auch auf, erscheinen aber bald in besser ausgebildeten, lebhaft polarisierenden Kristallen von benzoesaurem Silber.

Unter dem Einfluß von Bromdämpfen zerfließen die Kristalle der Zimtsäure zu braungelben Tropfen, die der Benzoesäure lösen sich zum Teil und bleiben farblos. Fügt man, nachdem der Bromdampf etwa eine halbe Stunde auf die Zimtsäure gewirkt hat, eine Spur Schwefelkohlenstoff hinzu, bedeckt mit einem Deckglas und läßt einige Zeit liegen, so kristallisiert die Zimtsäure in büschelartig angeordneten Blättern als Dibromzimtsäure, zumeist senkrecht auf dem Objektträger stehend, aus. Es wird auch zu prüfen sein, ob sich auch die Ester der Zimtsäure in den Sublimaten befinden. Tunmann konnte die Zimtsäure nicht bloß aus Harzen, sondern auch aus künstlichen Gemischen, wie Zinkperubalsamsalbe, Zimtsäurezuckersirup, Zimtsäurekreosotpillen, Zimtsäurekognak und Zimtsäureöl sublimieren.

Bedenkt man, daß aus Harzen bereits zahlreiche Körper sublimiert werden konnten: Benzoe-, Zimt-, Ferula-, Protokatechusäure, Brenzkatechin, Umbelliferon u. a., so ist ersichtlich, daß die Mikrochemie auch bei der Untersuchung der Harze die Makrochemie wesentlich unterstützen kann. Die in den Harzen vorkommende Zimt- und Benzoesäure wirken antiseptisch und es ist daher anzunehmen, daß sie auch im Wundbalsam der Pflanze diese Aufgabe zu erfüllen haben.

Cumarin, $C_6H_4 \begin{cases} CO \cdot CO \\ H:CH \end{cases}$

Die Cumarinsäure ist in freiem Zustande unbekannt. Wird sie aus ihren Salzen frei gemacht, so verliert sie sofort ein Molekül Wasser und geht in Cumarin über.

Vorkommen.

Cumarin ist ziemlich verbreitet. Im Waldmeister, Asperula odorata, im Steinklee, Melilotus officinalis, im Ruchgras, Anthoxanthum odoratum, in Hierochloa australis, H. borealis, in den Fahamblättern, Angraecum fragrans, in Nigritella alpina, Liatris odoratissima, Herniaria glabra, Ageratum mexicanum, in der Tonkabohne, Dipteryx odorata, in der Rinde von Prunus Mahaleb u. a. In welcher Form das Cumarin in der lebenden Zelle auftritt, ist vielfach noch unbekannt. Im Steinklee soll es an Melilotsäure gebunden sein. In manchen Pflanzen entsteht es, wenigstens der Hauptmasse nach, erst nach dem Absterben (Molisch und Zeisel, I).

Eigenschaften. Farblose, seidenglänzende, rechtwinkelige Blättchen oder vierseitige Säulen. Rhombisch. Geruch nach Waldmeister. Schmelzpunkt 67°. Sublimiert leicht. Gut löslich in heißem Wasser, Alkohol, Äther, fetten und flüchtigen Ölen. Cumarin wird von warmer verdünnter Natronlauge langsam gelöst und aus der Lösung durch Essigsäure in Form von dicken Prismen und langen Spießen unverändert abgeschieden.

Der Nachweis gelingt mikrochemisch nach Nestler (II) sehr leicht durch Sublimation (Fig. 57). Man halte die Temperatur bei etwa 75° C. Einige kleine Fragmente der Tonkabohne (0,005 g) geben, der Sublimation unterworfen, schon nach 3—5 Minuten zahlreiche Kristalle und Aggregate, meist aus Prismen bestehend, von den er-

wähnten Eigenschaften des Cumarins. Andere günstige Versuchsobjekte sind Ageratum, Asperula, Hierochloa, Anthoxanthum und Prunus mahaleb.

Reaktion mit Jod. Jod gibt mit Cumarin eine kristallisierte Verbindung. Ein Tropfen einer heiß gesättigten Cumarinlösung mit Jodtinktur zusammengebracht, trübt sich infolge des Auftretens von überaus kleinen Tröpfchen. Nach einigen Sekunden kommt es zur Bildung von langen, schmutzig violett gefärbten Büscheln von Nadeln. Auch andere, freies Jod enthaltende Lösungen geben diese Reaktion, besonders schön eine Lösung von Chlorzinkjod. Vielleicht handelt es sich hier um eine analoge Verbindung wie bei der bereits bekannten Cumarindibromverbindung. $C_9H_6O_2Br_2$, in der nur anstatt Brom Jod addiert ist.

Wuite (I) redet einer Kombination der Sublimation mit der Anwendung einer wässerigen Jodjodkaliumlösung das Wort.

Die Reaktion mit Jod auf Cumarin wurde zuerst von Senft (I) mikrochemisch verwertet. Schon ein ganz geringer Sublimatanflug genügt zum Gelingen der Reaktion. Besonders schöne und deutliche Reaktion erhält man mit der Tonkabohne. Der auf den Samen vorhandene kristallinische Cumarinbelag und auch das Keimblattgewebe geben mit Chlorzinkjod die beschriebene Probe. Es ist bisher nicht der Beweis geliefert worden, daß das Cumarin schon in der lebenden Tonkabohne vorhanden ist. Es ist möglich, daß es erst postmortal entsteht. Es könnte sich vielleicht mit dem Cumarin ähnlich verhalten, wie bei dem Vanillin der Vanillefrucht, das auch erst nach dem Absterben der Frucht entsteht (vgl. 160). Tatsächlich hat Wuite nachgewiesen, daß in Asperula odorata, Melilotus officinalis und Prunus mahaleb das Cumarin großenteils in gebundenem Zustande vorhanden ist und daß die cumarinhaltigen Stoffe, die wahrscheinlich als Glykoside anzusprechen sind, durch Emulsin gespalten werden.

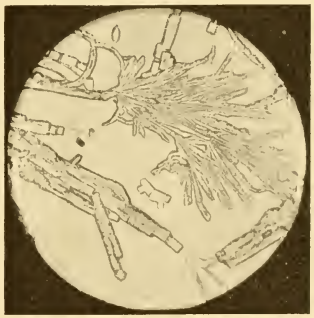


Fig. 57.
Cumarinkristalle, gewonnen durch Mikrosublimation aus der Tonkabohne, Dipteryx odorata. Vergr. 180.

Die Methysticinsäure

läßt sich in der Kawa-Kawa, der Wurzel von Piper methysticum, nach Tunmann (VI) in folgender Weise nachweisen: Etwas Pulver der Droge wird mit 1—2 Tropfen offizineller Kalilauge unter Deckglas aufgekocht und nach dem Abkühlen und dem Verdunsten der halben Flüssigkeit wird verdünnter Alkohol (1 : 1) zugesetzt. Nach 24 Stunden wachsen aus dem beim Aufkochen in gelber Farbe erscheinenden und nach Zusatz des Alkohols braun gewordenen Tropfen zahlreiche Kristalle heraus: ungemein zarte, sehr lange (bis 1 mm) vielfach hin- und hergebogene Kristallnadeln, die sich von den gleichzeitig erscheinenden Kristallen

leicht unterscheiden lassen. Durch Auswaschen mit Wasser können die letzteren entfernt werden, es bleiben dann die Kristalle der Methysticinsäure allein übrig. Bezüglich des Nachweises von in der Kawawurzel auch vorkommenden Methysticins vgl. man TUNMANN (IV, 180).

Santonin, $C_{15}H_{18}O_3$.

Vorkommen.

In den noch nicht aufgeblühten Blütenköpfchen (Flores cinae) einer Artemisia, wahrscheinlich der Artemisia Cina Berg und anderer Arten. Die Begrenzung der Arten ist nicht sicher. Die Blütenköpfchen heißen auch Wurmsamen.

Eigenschaften. Farblose Blättchen, rechtwinkelige Tafeln oder Prismen des rhombischen Systems. Schwer löslich in Wasser, leichter in Alkohol und Äther, sehr leicht in Chloroform. Santonin ist das Lakton der Santoninsäure.

Mikrochemischer Nachweis. In den Blütenköpfchen findet man häufig Kristallsplitter. Die best ausgebildeten liegen den Flügeln der Hüllkelchblätter an. Nach den Untersuchungen von HEYL und TUNMANN (I) werden sie bis 60 μ lang und 15 μ breit, leuchten bei gekreuzten Nicols nur grau auf und löschen schief aus. Alkoholische Natronlauge gibt zwar mit reinem Santonin eine Rotfärbung, aber diese Reaktion gibt mit der Droge keine befriedigenden Resultate, da die Santoninmengen zu klein sind. Auch die Sublimation mit der Droge führt zu keinem brauchbaren Ergebnisse. HEYL und TUNMANN (I, 249) empfehlen zum Nachweis das eigenartige Verhalten der Kristalle zum Chlorzinkjod: „Die Kristalle werden langsam gelb, erhalten Risse und Sprünge und gehen schließlich in tief-gelbbraune Tröpfchen über.“ Das Santonin entsteht nach TSCHIRCH (III) in den Drüsenhaaren neben dem Öl.

III. Aldehyde.

Aldehyde sind Körper, die durch Oxydation der primären Alkohole entstehen und durch die Gruppe $C\begin{matrix}O\\H\end{matrix}$ ausgezeichnet sind. Nur der Formaldehyd ist gasförmig, alle anderen sind flüssig oder fest und zeichnen sich oft durch einen spezifischen Geruch aus. Sie sind außerordentlich reaktionsfähig, oxydieren und polymerisieren sich leicht.

Nachweis. Der mikrochemische Nachweis der Aldehyde direkt in der Pflanze liegt noch sehr im argen, denn die meisten der in der Makrochemie angewandten Reduktions-, Fällungs- und Farbenreaktionen sind für die Pflanze entweder noch nicht ausprobiert oder nicht anwendbar oder nicht eindeutig. Verhältnismäßig gute Dienste leisteten mir das SCHIFF'sche Reagens, die Reaktion von Silbernitrat und in manchen Fällen eine alkoholische Pyrrollösung.

1. Das SCHIFFsche Reagens oder die fuchsin-schwefelige Säure wird bereitet, indem man zu einer 0,025proz. Fuchsinlösung so viel SO_2 gibt, daß gerade Entfärbung eintritt. Ein Überschuß von SO_2 ist zu vermeiden, denn je geringer dieser ist, desto empfänglicher ist die Reaktion. Man fügt zu dieser Lösung den zu untersuchenden Körper und verschließt das Reagenzglas. Ein zweites Glas dient zur Kontrolle. Liegt ein Aldehyd vor, so färbt sich die Flüssigkeit violett, die Kontrollprobe jedoch nicht. Leider tritt die Reaktion nicht mit allen Aldehyden ein, so

verhalten sich einzelne Phenolaldehyde, Glyoxal, Sulfaldehyd, Dextrose, Laevulose und p-Nitrophtalaldehyd negativ. Durch manche Oxydationsmittel kann die Reaktion auch ausgelöst werden, vielleicht auch durch manche Ketone.

2. Eine Silberlösung kann gleichfalls in vielen Fällen zum Nachweis von Aldehyden herangezogen werden. Diese geben bei der makrochemischen Reaktion den sogenannten Silberspiegel. Tollens' Reagens besteht aus 3 g Silbernitrat in 30 ccm Ammoniakflüssigkeit (spez. Gew. = 0,923) und 30 ccm 10proz. Natronlauge. Man bewahrt die beiden Lösungen gesondert und schützt die Silberlösung vor Licht. Unmittelbar vor dem Gebrauche mischt man die beiden Flüssigkeiten zu gleichen Volumteilen.

Für den Nachweis von Aldehyden im Gewebe taugt das Tollenssche Reagens kaum, weil die Natronlauge und das Ammoniak den Zellinhalt, insbesondere den Kern und die Chromatophoren zerstören. Hingegen gab mir eine wässerige 1proz. Lösung von Silbernitrat bessere Resultate, weil der Zellinhalt gestaltlich nicht sehr verändert wird und die reduzierenden Substanzen lokal angezeigt werden. Die Schwärzung des Objektes muß mit großer Reserve gedeutet werden, weil nicht bloß Aldehyde, sondern noch andere Körper die Silberreduktion geben, z. B. manche aromatische Amine, Alkaloide, mehrwertige Phenole usw. Dasselbe gilt mutatis mutandis auch von den anderen genannten Aldehydreaktionen.

3. Pyrrollösung. Ich benutze eine 10proz. Lösung in absolutem Alkohol. In diese wird der Schnitt $^1/_2$ Minute eingetaucht, aus der Lösung herausgenommen und dann mit konzentrierter Salzsäure behandelt.

Spezielles. a) Kutikula. Wenn man frische Schnitte von verschiedenen Pflanzen mit dem Schiffschen Reagens behandelt, so färbt sich in einer großen Zahl von Fällen die Kutikula nach Géneau de Lamarlière (V) rotviolett, was ich bestätigen kann. Als Übungsbeispiel empfehle ich das Blatt von Petroselinum sativum, Fuchsia globosa und Campanula sp. Die Kutikula wird bei diesen Pflanzen scharf und deutlich ausgefärbt. Im Gegensatz hierzu gibt es aber Epidermen, die keine scharf abgesetzte Kutikula aufweisen, sondern deren Kutikula allmählich in Kutikularschichten übergeht, so daß auch der Farbenton dementsprechend von außen nach innen an Intensität abnimmt. Endlich fand ich Fälle, wo die Epidermiswand — ausgenommen die Schließzellen — sich mit Schiffs Reagens gar nicht oder fast gar nicht färbt. Das ist z. B. bei der Epidermis der Scheinknolle von Maxillaria variabilis und der Blattoberhaut von Sarcanthus rostratus der Fall. Daraus geht hervor, daß entweder mit der Kutikularisierung das Auftreten von Aldehyden nicht notwendig verbunden sein muß oder daß Aldehyde vorliegen, die durch das Schiffsche Reagens nicht angezeigt werden. Dafür, daß in der Kutikula häufig Aldehyde auftreten, spricht auch die Tatsache, daß die Kutikula sich mit Silbersalzen oft bräunt oder schwärzt.

b) Verholzte und andere Membranen. Géneau fand auch, daß die Libriformfasern und die Gefäße mit dem Schiffschen Reagens die Violettfärbung geben und ich kann hinzufügen, daß überhaupt jede von mir geprüfte verholzte Zellhaut die Reaktion zeigt. Von vornherein dürfte man geneigt sein, das Lignin für die Reaktion verantwortlich zu machen, um so mehr als ja nach den Untersuchungen von Grafe (I), Czapek (IV) und anderen tatsächlich im Lignin Aldehyde vorhanden sind. Allein Géneau bemerkt, daß die Schiffsche Reaktion mit verholzten Zellwänden auch eintritt, wenn man vorher das Lignin durch oxydierende oder reduzierende Mittel zerstört hat. Er schließt daraus, daß der Körper, der in verholzten Membranen die Schiffsche Reaktion veranlaßt, eine von dem Lignin verschiedene Substanz ist. Das mag bei den von Lignin befreiten Zellhäuten der Fall sein, es schließt dies aber nicht aus, daß sich in der intakten verholzten Membran die das

Lignin auszeichnenden Aldehyde an dem Zutreffen der SCHIFFschen Reaktion beteiligen. Dafür, daß in der verholzten Zellhaut Aldehyde vorhanden sind, spricht auch die Tatsache, daß sich diese auch mit Pyrrolsalzsäure rot färben.

Nicht unerwähnt soll bleiben, daß viele nicht verholzte Membranen sich mit SCHIFFschem Reagens gleichfalls intensiv rot färben. Ein ausgezeichnetes Beispiel sind die Haarschuppen von Nidularium spectabile. Weitere Beispiele: Die Hyphen gewisser Flechten, Sticta pulmonaria und Usnea barbata. Die Scheide der Eisenbakterien, die interkalar wachsenden Stellen von Oedogonium, die Wände der Blaualgen Tolypothrix und Rivularia.

c) Sekretbehälter. Es ist bekannt, daß ätherische Öle sehr häufig Aldehyde enthalten, namentlich die höheren Glieder der Aldehyde der aliphatischen Reihe sind fast ausschließlich in solchen Ölen der Pflanzen gefunden worden. Einige Beispiele seien genannt:

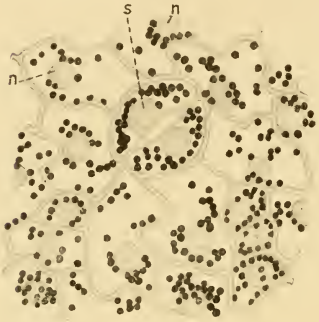


Fig. 58.
Schwärzung der Chlorophyllkörner in der Blattoberhaut von Sambucus nigra durch Silbernitrat. Auch die der Schließzellen *s*. Die Kerne *n* bleiben farblos. Vergr. etwa 300.

Das Azetaldehyd im Kampfer-, Anis-, Kümmel-, Rosmarin-, Pfefferminz- und Schafgarbenöl.

Das n-Butyraldehyd im Cajeput- und Eukalyptusöl. Das Isovalerianaldehyd im Cajeput- und amerikanischen Pfefferminzöl.

Das n-Oktylaldehyd im Zitronenöl, das Nonylaldehyd in diesem und in Rosen-, Mandarinen- und Zimtöl. — Auch die Aldehyde der aromatischen Reihe wie Benzaldehyd, p-Cuminaldehyd, Phellandrol, Perilla-, Salizyl-, Anis-, Asaryl-, Hydrozimt-, Zimtaldehyd, ferner Vanillin, Piperonal, Furfurol, Methylfurfurol finden sich in ätherischen Ölen vor.

Mit Rücksicht darauf war es von vornherein sehr wahrscheinlich, daß die Sekretbehälter mit ätherischen Ölen die Aldehydreaktionen häufig geben, wie ich in folgenden Fällen feststellen konnte.

Cinnamomum Reinwardtii. In den Blättern kommen zweierlei Sekretbehälter vor: Öl- und Schleimzellen. Die ersteren geben die SCHIFFsche Reaktion, die letzteren bleiben vollständig farblos.

Laurus nobilis. Die Ölzellen der Blätter färben sich mit dem SCHIFFschen Reagens rot. So verhalten sich auch die Öltropfen der Blätter von Myrtus communis.

Gingko biloba. Im Safte des Fruchtfleisches färben sich große ölige Tropfen rasch mit SCHIFFs Reagens.

Dahlia variabilis. Desgleichen die öligen Tropfen in den Zellen der Wurzelknollen.

d) Chlorophyllkörner. Da nach der BAYERschen Hypothese als Vorstufe der Kohlehydrate bei der CO_2-Assimilation im Chlorophyllkorn Formaldehyd entstehen soll, so hat man zunächst nach Formaldehyd in den grünen Vegetationsorganen gesucht. Obwohl es gelungen ist, sehr verschiedene Aldehyde im Blatte nachzuweisen, steht dennoch ein unbestreitbarer Nachweis von Formaldehyd in der grünen Pflanze bis heute aus. Aber selbst wenn dieser Nachweis im grünen Blatte gelänge, so hätte dieser, wie WILLSTÄTTER und STOLL (I, 377) richtig bemerken, keine Bedeutung für die Beurteilung des Assimilationsvorganges. Es wäre dann immer noch zweifel-

haft, wo dieses Formaldehyd entsteht, ob im Chlorophyllkorn oder im übrigen Zellinhalt, da es ja auf verschiedene Weise intra vitam und post mortem entstehen kann.

Daher wäre es ein großer Gewinn, wenn es gelänge, das Aldehyd, sei es das Formaldehyd oder ein anderes direkt im Chlorophyllkorn nachzuweisen. Das ist aber bisher einwandfrei nicht gelungen. Immerhin sollen einige Erfahrungen hier mitgeteilt werden, die nicht ohne Interesse sind und vielleicht anderen Beobachtern von Nutzen sein können.

Was zunächst die Chlorophyllkörner unter der Einwirkung des SCHIFFschen Reagens anbelangt, so ist zu bemerken, daß sich viele (Boehmeria utilis, Aloe-Arten, Selaginella Martensii u. a.) rot färben, aber meist erst nach mehreren Stunden oder Tagen. Dies spricht mehr für eine postmortale Entstehung des Aldehyds. Haben doch auch WILLSTÄTTER und STOLL (I, 379) gezeigt, daß zwar nicht der Chlorophyllfarbstoff selbst, wohl aber gewisse seiner Begleiter im Lichte Formaldehyd absplittern lassen. Anders ist es, nach MOLISCH (VI), bei der Einwirkung einer 1 proz. Lösung von Silbernitrat auf lebende Chlorophyllkörner. Diese haben bei den meisten Gewächsen das Vermögen, Silbersalze, z. B. salpetersaures Silber in einer $^1/_4$—1 proz. Lösung geboten, im Lichte wie im Finstern so energisch zu reduzieren, daß sie sich infolge des abgeschiedenen Silbers rasch braun und dann schwarz färben (Fig. 58). Nur das lebende Chlorophyllkorn zeigt die Silberabscheidung, das tote aber nicht. Dies wird zwar von CZAPEK (III) bestritten, weil seiner Meinung nach mit Bleizuckerlösung behandelte Schnitte doch die Schwärzung der Chromatophoren aufweisen, allein eine Nachprüfung (MOLISCH VII) führte mich zu der Überzeugung, daß, wenn die Chlorophyllkörner mit Bleizucker wirklich abgetötet worden sind, sie die Reduktion des Silbersalzes nicht mehr durchzuführen imstande sind. Welcher Körper die Reduktion veranlaßt, läßt sich, da ja viele dafür verantwortlich gemacht werden können, nicht bestimmt sagen. Chlorophyllfarbstoff, Karotin und Xantophyll sind es nicht. Verschiedene Erfahrungen und Erwägungen lenken die Aufmerksamkeit auf die durch ihre heftigen Atombewegungen ausgezeichneten Aldehyde, auf Wasserstoffsuperoxyd und Depside (CZAPEK III), aber ein Beweis, daß diese Körper die Reduktion besorgen, ist vorläufig nicht erbracht (MOLISCH VI, 471).

Vanillin, $C_8H_8O_3$, $=C_6H_3$ (OH, OCH_3, CHO)

ist Protokatechualdehyd-3-methyläther.

Vorkommen.

Es findet sich als kristallinischer Überzug in seidenglänzenden Nadeln auf der Oberfläche der (im Handel befindlichen) Früchte von Vanilla planifolia. Die erntereife Frucht enthält keine merklichen Mengen von Vanillin in freiem Zustande und dementsprechend fehlt ihr auch der Vanillegeruch. Das Vanillin entsteht erst postmortal (MOLISCH I, 46, 49; BUSSE I, 102 d. Sep.; J. BEHRENS I). Ferner kommt es vor in den Blüten von Nigritella suaveolens, Scorzonera hispanica, Spiraea Ulmaria, in verschiedenen Harzen usw., doch ist in einzelnen Fällen noch der Nachweis zu erbringen, ob das Vanillin schon in der lebenden Pflanze vorhanden war.

Eigenschaften. Monokline Nadeln vom Geruch und Geschmack der Vanille. Leicht löslich in Alkohol, Äther, Schwefelkohlenstoff und Chloroform, schwer löslich in kaltem Wasser, leichter in heißem. Die wässerige Lösung wird mit Eisenchlorid blau. Vanille gibt nach

Singer (I) mit den Holzstoffreagentien ganz ähnliche Färbungen wie mit Lignin. Es liefert mit Phloroglucin und Salzsäure eine rotviolette und mit Anilinsulfat eine gelbe Färbung. Vanillinkristalle werden durch Metadiamidobenzol gelb und durch mein Coniferinreagens (vgl. 191) karminrot (Molisch I, 48).

Nachweis.

Um mikrochemisch Vanillin in der Vanillefrucht nachzuweisen, verfahre ich in folgender Weise (Molisch I, 48).

1. Ein Schnitt durch die Vanillefrucht wird mit einem Tröpfchen Orcinlösung (etwa 4%) benetzt und ein großer Tropfen konzentrierter Schwefelsäure hinzugefügt. Der Schnitt wird hierbei momentan intensiv karminrot.

2. Verfährt man ebenso unter Anwendung von Phloroglucin anstatt Orcin, so erhält man mit H_2SO_4 augenblicklich eine ziegelrote Färbung.

Die Reaktion 1 verdient der auffallenden Farbe wegen den Vorzug. Bei beiden Reaktionen ist aber zu beachten, daß, wenn sie beweisend sein sollen, die Färbung momentan und schon in der Kälte eintreten muß; nachträglich erscheinende Färbungen beweisen gar nichts, denn diese könnten auch von Zucker, Gummi und anderen Kohlehydraten herrühren. — Das Vanillin durchtränkt in der käuflichen Frucht alle Zellen, da alle Zellwände (auch die nicht verholzten) und der Inhalt aller Elemente die Rotfärbung bei den angeführten zwei Proben aufweisen.

3. Nestler (II, 362) konnte auch durch Mikrosublimation Vanillin aus kleinen Stückchen der Vanillefrucht gewinnen und nachweisen.

Aldehydtropfen.

Bei Potamogeton-Arten, besonders bei P. praelongus hat Lundström (I) eigentümliche Tropfen beschrieben, die sich in den Epidermiszellen ganz junger Blätter und Nebenblätter noch vor Ausbildung des Chlorophyllapparates vorfinden und in alten Blättern wieder verschwinden. Ihre Bildung soll an kleine, den Leukoplasten ähnliche Gebilde gebunden sein, die er Ölplastiden nannte. Aber Lidforss (II), der Lundströms Beobachtungen einer kritischen Nachprüfung unterworfen hat, zeigte, daß die Tropfen kein plasmatisches Stroma besitzen, sondern lediglich Tropfen darstellen, die spezifisch schwerer als der Zellinhalt sind und wahrscheinlich aus einem aromatischen Aldehyd bestehen. Sie reduzieren ammoniakalische Silberlösung, geben mit Phenylhydrazin (2 T. Phenylhydrazin, 2 T. 50proz. Essigsäure, 20 T. Wasser) einen gelben Niederschlag und zeigen die Schiffsche Reaktion.

IV. Chinone.

Juglon, $C_{10}H_6O_3$ = Oxy-α-naphthochinon.

Stellt gelbrote bis braunrote Nadeln aus Chloroform dar. Diese lösen sich außerordentlich leicht in Chloroform, schwerer in Äther und gar nicht im kalten Wasser. Es färbt die Haut nach und nach braun bis schwarz.

1. Im Kontakt mit wässerigem Ammoniak färbt sich Juglon sofort rotviolett oder purpurn. Durch diese Reaktion wurde der Körper von Herrmann (I, 27) mikrochemisch nachgewiesen. In der grünen Schale der Walnußfrucht (Juglans regia) findet sich viel Juglon. Setzt man frische Schnitte Ammoniakdämpfen aus, so gelingt die Reaktion besonders schön. Die anfangs prächtige Färbung geht allmählich in trübrot oder braun über.

2. Nickelacetat wurde zum makrochemischen Nachweis und zur Unterscheidung der Oxybenzo-, Oxynaphtho- und Oxyanthrachinone von Brissemoret und Combes (I) verwendet. Man versetzt 10 ccm der alkoholischen Lösung mit 5 ccm einer 5proz. Nickelacetatlösung. Bei Gegenwart eines Oxybenzochinons (Perezon, Embeliasäure) tritt eine blaue Färbung und Fällung, bei Gegenwart eines Oxynaphthochinons (Juglon, Chinon von Drosera intermedia und Dr. rotundifolia) eine violette Färbung und bei Gegenwart eines Oxyanthrachinons (Chrysophenol, Emodin) eine rosarote Färbung auf.

Nickelacetat konnte ich, namentlich wenn größere Mengen von Juglon, wie in den Nußschalen, vorhanden sind, gut auch mikrochemisch verwerten. Dickere Schnitte nahmen mit einem Tropfen konzentrierter Nickelacetatlösung eine rotviolette Färbung an. Das Gewebe und der Tropfen färben sich diffus. Auch die nach 5 gewonnenen Juglonkristalle zeigen deutlich die Reaktion.

3 Kupferazetat wurde mit Vorteil von Tunmann (I, 1006) verwendet. Trägt man Schnitte in einen Tropfen einer wässerigen Lösung ein, so bildet sich sofort in der Flüssigkeit und auf dem Schnitt aus dem den aufgeschnittenen Zellen entströmenden α-Hydrojuglon Juglonkupfer, bestehend aus 5 bis 20 μ langen Kristallnadeln, die sich zu drusenartigen Bildungen vereinigen und im durchfallenden Lichte fast schwarz erscheinen. In den unaufgeschnittenen Zellen tritt das Juglonkupfer in kugeligen Formen auf.

4. Mit Bromwasser erhält man sofort kleine gelbe bis braungelbe Juglonkristalle, die am Rande des Deckglases zu großen Kristallen auswachsen (Tunmann I, 1009).

5. Auch in Kristallform kann man, wie ich gefunden habe, Juglon leicht nachweisen.

a) Das Juglon kommt in den Parenchymzellen der grünen Nußschale in einer fast gesättigten Lösung vor. Ein frischer Schnitt auf dem Objektträger der Verdunstung ausgesetzt, zeigt an seiner Oberfläche oft schon nach Bruchteilen einer Minute Tausende kleiner gelber Nädelchen.

b) Preßt man aus der grünen Schale einen Safttropfen aus, so bildet sich, sowie die Verdampfung des Tropfens anhebt, ein Kristallbrei von gelben Nädelchen oder Dendriten (Fig. 59 *c*). Relativ große Juglonkristalle erhält man, wenn man frische Schnitte unterm Deckglas mit Chloroform behandelt. Dieses löst das Juglon und läßt es beim Verdampfen am Deckglasrande ausfallen.

c) Juglon konnte ich leicht sublimieren. Ein aus der Nußschale ausgepreßter Safttropfen wird mäßig erwärmt. Das Juglon verflüchtigt sich mit dem Wasser und aus dem kondensierten Wassertröpfchen fällt dann das Juglon meist in mehr oder minder langen gelben, doppelbrechenden Kristallnadeln aus. Bei langsamer Abkühlung auch in

Form von rechtwinkligen Plättchen (Fig. 59 *a*, *b*). Unabhängig von mir hat schon früher Tunmann (I) den Juglonnachweis durch Mikrosublimation geführt. Alle die gelben, nach a, b, c gewonnenen Kristalle zeigen die Eigenschaften des Juglon. Sie lösen sich in Alkohol, Chloroform, Anilin, langsam in Äther und Petroläther sowie langsam in Schwefelsäure mit tiefroter Farbe. Ammoniak färbt sie violettblau. In konzentrierter Kalilauge lösen sie sich kaum und erscheinen (im durchfallenden Lichte) fast schwarz. Verdünnte Kalilauge löst sie sofort mit rötlicher Farbe (Tunmann I, 1008).

Indem man die angeführten Reaktionen miteinander kombiniert, wird der Juglonnachweis sicherer. Das Gelingen der früher allein praktizierten Ammoniakreaktion genügt nicht, da z. B. das grüne Perikarp der Roßkastanie (Aesculus Hippocastanum) zwar die Ammoniakprobe gibt, die anderen aber nicht. Es dürfte sich also hier um einen anderen Körper handeln.

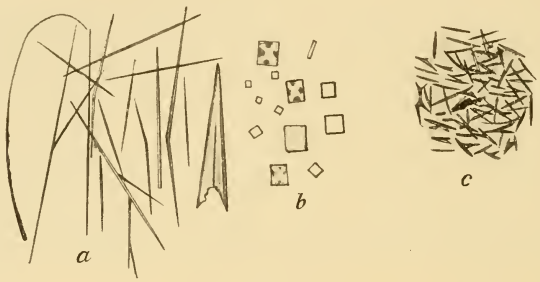


Fig. 59.
Juglonkristalle. *a* und *b* gewonnen durch Sublimation, *c* durch Verdampfenlassen eines Safttropfens aus der grünen Fruchtschale von Juglans regia. Vergr. 250.

Fünfstück und Braun (I) wiesen in den zur Familie der Droseraceen gehörenden Pflanzen Drosera binata und Dionaea muscipula einen Körper nach, der zu den Juglonen gehören oder diesen nahestehen dürfte. Er kommt in der lebenden Zelle nicht kristallisiert, sondern in einer konzentrierten oder gesättigten Lösung vor, aus der er beim Absterben der Zelle z. B. durch Austrocknen oder durch Verletzung in Form von gelben Nadeln ausfällt. In ihrem Äußeren gleichen sie dem von Molisch (IV) bei Dionaea entdeckten gerbstoffartigen Körper, obwohl sie sicherlich davon verschieden sind.

Vorkommen.

Nach den Untersuchungen von Brissemoret und Combes (II) ist die Verbreitung des Juglons in der Familie der Juglandeen sehr groß. Sie konnten es bei Juglans regia, J. nigra, J. cinerea, Carya olivaeformis und Pterocarya caucasica nachweisen. Der Stamm führte es gewöhnlich im Baste, die Blätter in dem die Nerven begleitenden Parenchym, die Wurzel im Bast und Rindenparenchym und das Perikarp im Parenchym.

Ein ausgezeichnetes Objekt für den Juglonnachweis stellt die grüne Fruchtschale von Juglans regia dar, namentlich unreifer Früchte. Nach Tunmann (I) führen die ganz jungen Nüsse α-Hydrojuglon und Juglon, und zwar mit Ausnahme

der Epidermis im ganzen Gewebe. Die jungen Zellen, die später das steinharte Endokarp bilden, enthalten, solange sie noch nicht verholzt sind, Juglone. Den Hauptsitz aber stellen die noch unverdickten Zellen der grünen Schale dar.

Tunmann hält die Zellen mit völlig farblosem Zellsaft für den Sitz des α-Hydrojuglons, die mit gelblich gefärbtem Inhalt für den des Juglons. α-Hydrojuglon geht im Gewebe leicht in Juglon über.

Lapachol

wird als ein Oxy-Amylen-Naphtochinon aufgefaßt und liefert bei Behandlung mit konzentrierter Schwefelsäure ein Chinon, das Lapachonon $C_6H_{12}O_2$. Beide Substanzen finden sich im Lapachoholze von Tecoma speciosa DC. und einigen anderen Nutzhölzern der Familie der Bignoniaceen. Nach Tunmann (VII) läßt sich der Nachweis des Lapachols mit einem kleinen Splitter Holz durch Sublimation nachweisen. Man erhält hellgelbe kristallisierte Sublimate, deren Einzelkristalle bereits makroskopisch sichtbar sind. Monokline Prismen oder Täfelchen von chromgelber Farbe, im polarisierten Lichte in allen Farben leuchtend, mit teils gerader, teils schiefer Auslöschung und starkem Pleochroismus.

Die Kristalle sind unlöslich in Wasser, wenig löslich in Äther, Alkohol, leicht löslich in Chloroform, Aceton, Pyridin und Essigäther. Fügt man zu einem Lapacholsublimat wässeriges Ammoniak (kein Überschuß!), dann geben die kleinen Kristalle eine rote Lösung, während die großen sofort in drusenförmig angeordnete, dunkelrote, fast schwarze Nadeln übergehen, die im polarisierten Lichte kupferfarben erscheinen.

Auch im Gewebe läßt sich Lapachol mit Ammoniak nachweisen und hierbei zeigt sich, daß nach 1—2stündiger Einwirkung von Ammoniakdampf nur die Gefäße rot werden, weil das Lapachol nur hier seinen Sitz hat.

Im Anschluß sei noch ein eigenartiger Körper erwähnt, den Wimmer, Ch. (I) in Geranium pratense und einigen anderen Arten dieser Gattung entdeckt hat. Es sind gelbe Rhomboeder und Prismenkombinationen — einzeln, sternförmig, drusig oder unregelmäßig gruppiert — in Rinde und Mark der unterirdischen Organe. Sie werden mit allem Vorbehalt von ihrem Entdecker als aromatische, phenolische Verbindung angesprochen, die vielleicht Beziehungen zu der bei Dionaea gefundenen besitzt.

V. Terpene, Harze und Kautschuk.

a) Terpene.

Zahlreiche Pflanzen führen in ihren Blättern, Blüten oder Früchten ölartige Stoffe, die ihnen ihren eigenartigen Duft verleihen und die aus ihnen leicht durch Destillation mit Wasserdampf gewonnen werden können. Man hat sie früher als ätherische Öle in eine Gruppe vereinigt. Heute weiß man, daß es sich zum Teil um ihrer Natur nach sehr verschiedene Körper handelt und einen Hauptanteil der ätherischen Öle alizyklische Kohlenwasserstoffe von der Formel $C_{10}H_{16}$ ausmachen, die man als Terpene bezeichnet.

Sie finden sich im Pflanzenreiche, insbesondere bei den Blütenpflanzen in den Sekretbehältern weit verbreitet vor: bei Coniferen, Rutaceen, Myrtaceen, Labiaten, Umbelliferen usw. Die ätherischen Öle der Pflanzen stellen meist Gemenge verschiedener Terpene, ihrer sauerstoffhaltigen Derivate und nicht flüchtiger Bestandteile wie Harzsäuren und anderer Stoffe dar.

Mikrochemische Spezialreaktionen sind bisher für die einzelnen Terpene nicht ausgearbeitet, ja selbst zuverlässige Gruppenreaktionen stehen noch aus. Man wird sich daher wohl damit bescheiden müssen, allgemeine Charakteristika herbeizuziehen, um die Zugehörigkeit zu den Terpenen, wenn möglich unter Anlehnung an die Befunde der Makroanalyse, wahrscheinlich zu machen. Die Terpene brechen das Licht sehr stark, lösen sich in Wasser nicht oder fast nicht, hingegen leicht in Äther, Chloroform, Benzol, Schwefelkohlenstoff und ätherischen Ölen, werden ebenso wie fette Öle durch Cyanin und Alkannin gefärbt und durch Osmiumsäure geschwärzt. Im Gegensatz zu fetten Ölen sind sie bei höheren Temperaturen leicht flüchtig.

Löslichkeit. Die ätherischen Öle lösen sich meist in denselben Lösungsmitteln wie die Harze und Fette, doch besteht insofern ein Unterschied, als die meisten ätherischen Öle unterm Deckglas sich leicht in Eisessig und in wässeriger Chloralhydratlösung (fünf Teile Chloralhydrat und zwei Teile Wasser) lösen, während dies bei der Mehrzahl der Fette nicht der Fall ist (A. Meyer I, 29).

Färbung. Die meisten Farbstoffe, die Fette färben, tingieren auch die ätherischen Öle, daher läßt sich eine Unterscheidung daraufhin nicht begründen und auch das von Perrot (I) empfohlene Violet de Paris (ein Methylviolett) kann durchaus nicht als ein eindeutiges Reagens auf ätherische Öle betrachtet werden.

Verdunstung. Die ätherischen Öle sind flüchtig, die fetten Öle nicht. Diese wichtige Eigenschaft kann auch zur Diagnose herangezogen werden, doch ist dabei zu beachten, daß viele ätherischen Öle, namentlich wenn sie gekocht werden oder bei höherer Temperatur verdampfen, einen harzigen Rückstand hinterlassen (Tschirch IV). Enthält ein Schnitt ätherisches Öl, so verschwindet es nach 5—15 Minuten andauerndem Kochen, während fettes Öl verbleibt. Bringt man frische Schnitte, ohne sie mit einem Deckglas zu bedecken, in einen Wärmekasten von 130°, so verflüchtet sich nach 10 Minuten das ätherische Öl, das fette nicht (A. Meyer I, 20).

Salzsäuredämpfe. Mesnard (I, II) benutzt die Einwirkung der Salzsäuredämpfe zur Unterscheidung der ätherischen von fetten Ölen. Auf einem Objektträger werden zwei Glasringe angeleimt, ein größerer höherer und darin ein kleinerer niedrigerer. Zwischen beide kommt reine Salzsäure. Der höhere Glasring wird mit einem Deckglas bedeckt, auf dessen Unterseite sich ein Hängetropfen, bestehend aus reinem, stark zuckerhaltigen Glyzerin befindet. Die zu prüfenden Schnitte liegen in dem Hängetropfen. Werden sie den Salzsäuredämpfen ausgesetzt, so erscheint das ätherische Öl schon nach wenigen Augenblicken in Form von Tröpfchen, verschwindet aber alsbald. Auch die fetten Öle bilden unter den oben erwähnten Verhältnissen, aber nicht so rasch, sondern erst nach längerer Zeit, manchmal erst nach 24 Stunden, Tropfen und diese bleiben erhalten. Sie färben sich mit Joddämpfen gelb. Empfehlenswerte Objekte zum Einüben sind die Blütenblätter der Rose und des Veilchens für ätherische Öle und Diatomeen für fette Öle.

Mazurkiewicz (I) legte sich die Frage vor, in welchen Teilen die Zellen des duftenden Blumenparenchyms (Lilium candidum, Convallaria majalis, Polianthes tuberosa usw.) sich das ätherische Öl be-

findet. Indem er die Gerbstoffe durch Einlegen der Schnitte auf 24 Stunden in Wasser zunächst entfernte, die Fette verseifte und schließlich das ätherische Öl mit Osmiumsäure oder mit Cyanin färbte, gelang es ihm zu zeigen, daß das ätherische Öl in kleinen Vakuolen seinen Sitz hat, die sich in der äußeren oder in der inneren Plasmahaut befinden. Das Körnerplasma, der Zellsaft, der Zellkern und die Zellmembran enthalten hingegen kein ätherisches Öl.

Die oben angeführten Unterscheidungsmittel sind meist physikalischer Natur und es ist daher begreiflich, daß der mikrochemische Nachweis der ätherischen Öle noch an Unsicherheit leidet. Der Nachweis seiner Komponenten ist derzeit gewöhnlich überhaupt nicht möglich.

Neben den Terpenen $C_{10}H_{16}$ gibt es noch Hydroterpene $C_{10}H_{18}$. von denen sich die Kampfer ableiten.

Die Kampfer sind meist fest und ihrer chemischen Natur nach Alkohole oder Ketone. Man unterscheidet monozyklische und bizyklische Kampfer.

Monozyklisch sind:	Menthol $C_{10}H_{20}O$
	Carvomenthol $C_{10}H_{20}O$
	Terpineol $C_{10}H_{18}O$
	Terpin $C_{10}H_2O_2$
	Menthon $C_{10}H_{18}O$.
Bizyklisch sind:	Borneol $C_{10}H_{18}O$
	Kampfer $C_{10}H_{16}O$
	Fenchon $C_{10}H_{16}O$
	Caron $C_{10}H_{16}O$.

Unter dem gewöhnlichen Kampfer $C_{10}H_{16}O$, auch Laurineenkampfer, chinesischer oder japanischer Kampfer genannt, versteht man das Stearopten aus dem ätherischen Öl des Kampferbaums Cinnamomum Camphora Nees et Eberm. Das den Kampfer enthaltende ätherische Öl findet sich in besonderen Sekretzellen aller Teile des Baumes. Der Kampfer kann sich schon in der lebenden Pflanze aus seinem Lösungsmittel ausscheiden und in den Spalten des Baumes kann es zu größeren Ablagerungen kommen. Der Kampfer bildet charakteristisch riechende, durchsichtige Kristalle des hexogonalen Kristallsystems. Er verflüchtigt sich leicht mit Wasserdampf, sublimiert leicht und löst sich rasch in den verschiedensten organischen Lösungsmitteln, aber wenig in Wasser.

Nach den Untersuchungen von Tschirch und Shirasawa (I), die die Verteilung und die Entstehung des Kampfers im Kampferbaume verfolgt haben, entstehen bei Cinnamomum Camphora die Ölzellen schon früh unmittelbar hinter dem Vegetationspunkte. Bei jüngeren Pflanzenteilen bildet sich das ätherische Öl in der von Tschirch benannten resinogenen Schicht. Mit dem Alter der Blätter nimmt der Gehalt an ätherischem Öl zu. Im alten Holze färbt sich das Öl orangegelb, geht später in das farblose Öl über und aus diesem bildet sich der kristallinische Kampfer. Der Umwandlungsprozeß beansprucht viele Jahre. Die im Parenchym liegenden Ölzellen enthalten mehr farbloses Öl und Kristalle als die der anderen Gewebe. Die Kristalle bestehen aus Laurineenkampfer. Man kann sich leicht davon überzeugen, wenn man Holzsplitter der Sublimation unterwirft. Die auf dem Deckglas sich bildenden Kristalle stimmen nach Tschirch mit denen des Laurineenkampfers überein. Bilden sich in Hohlräumen und Spalten des Holzes größere

Kampfermassen, so sind sie durch Sublimation aus den Ölzellen an die sekundären Lagerstätten gelangt (Shirasawa I). Eine zweite wichtige Handelssorte des Kampfers ist der von dem gewöhnlichen Kampfer chemisch verschiedene Sumatra- (Borneo-, Baros-)Kampfer. Er stammt von Dryobalanops aromatica Gaertn., einem zu den Dipterocarpeen gehörigen Baume. Auch hier kommt es in den Spalthöhlen des Holzes zu großen Anhäufungen von kristallinischen Massen des Kampfers (Vogl I).

β) Harze.

So wie der Begriff Farbstoff der Praxis entnommen wurde, so auch der Begriff Harz. Chemisch lassen sie sich nicht scharf definieren. Man versteht darunter natürliche, dem Pflanzenreiche entstammende, feste oder halbfeste, Gummimassen ähnliche Körper, die in Wasser unlöslich, in Alkohol, Äther und Schwefelkohlenstoff zumeist löslich, kohlenstoffreich, sauerstoffarm und stickstofffrei sind und mit rußender Flamme brennen. Beim Erwärmen erweichen sie, schmelzen zu einer klaren klebrigen Flüssigkeit, widerstehen relativ stark verschiedenen Reagentien und unterliegen nicht der Fäulnis. Um die neuere Erforschung der Harze haben sich namentlich Tschirch (I), der chemische und botanische Kenntnisse aufs glücklichste vereinigt, und seine Schüler in hohem Grade verdient gemacht. Eine vortreffliche Zusammenstellung der Naturgeschichte der Harze brachten Bamberger (I) und Wiesner (II). — Ein Harz stellt keinen einheitlichen Körper, sondern ein Stoffgemenge dar. Darin finden sich hauptsächlich esterartige, spaltbare Substanzen oder Resine, die widerstandsfähigen, indifferenten Resene, aromatische Säuren, Harzsäuren, ätherische Öle und gewisse Beisubstanzen. Man unterscheidet gewöhnliche Harze (Benzoë, Copal, Dammar usw.), Gummiharze und Balsame. Gummiharze enthalten neben gewöhnlichem Harz noch Gummi (Asa foetida, Galbanum, Gutti usw.). Balsame sind Harze von flüssiger oder halbflüssiger Konsistenz (Peru-, Copaiva-, Canadabalsam usw.).

Nachweis. Spezifische Reaktionen, die für den mikrochemischen Nachweis von Harzen oder ätherischen Ölen tauglich sind, gibt es nicht. Nur durch Heranziehung gewisser physikalischer Eigenschaften, wie Löslichkeit, Färbbarkeit und anderer Eigentümlichkeiten kann man beiläufig die Harznatur eines Körpers erweisen. Es ist daher keine leichte Sache, mit Sicherheit zu sagen, ob irgendein im Gewebe vorkommendes Tröpfchen ein ätherisches Öl bzw. Harz ist oder nicht.

In der Pflanze treten die Harze flüssig oder fest auf. Flüssig häufig in Form von stark lichtbrechenden, homogenen oder blasigen, schaumigen Tropfen. Fest in Form gelblicher bis brauner, meist amorpher Massen. Sie sind alle in Wasser unlöslich, die meisten, im Gegensatz zu den Fetten, in Alkohol löslich. Leicht löslich auch in Äther, Schwefelkohlenstoff, Terpentinöl, Benzol, Chloroform und ätherischen Ölen. In wässerigen Chloralhydratlösungen lösen sich die Harze entweder vollkommen (rezente Coniferenharze) oder sie quellen bloß auf (Dammar) oder sie bleiben unverändert (Copal). Gummiharze lösen sich in einer Chloralhydratlösung (60%) vollständig.

Alkannin. Müller (I) verwendete zuerst als Farbreagens die Alkannawurzel. Ein Stückchen davon wird zu dem im Wasser liegenden

Präparat gelegt, mit einem Deckglas bedeckt und Alkohol von der Seite hinzugefügt. Etwa vorhandene Harz- oder ätherische Öltröpfchen färben sich sehr rasch intensiv rot. Ebenso wirkt verdünnte alkoholische Alkanninlösung (vgl. p. 21). Tschirch (I, 1119) benutzt eine mit Wasser stark verdünnte Alkannatinktur (2 Teile Tinktur und 5 Teile Wasser), die Harz nicht mehr löst und doch noch gut färbt.

Fig. 60.
Tannenblatt (Abies pectinata), Querschnitt. Schematisch. In der Mitte das Gefäßbündel, rechts und links je ein Harzgang *h*. Vergr. 30.

Kupferacetat Unverdorben und Franchimont (I) haben die Eigenschaft der Harze, grüne Kupferverbindungen einzugehen, zum Nachweis benutzt. Man läßt die Objekte durch 5 bis 6 Tage in einer gesättigten wässerigen Lösung von essigsaurem Kupfer und wäscht dann mit destilliertem Wasser aus. Das Harz ist dann selbst an sehr dünnen Schnitten an der smaragdgrünen Farbe in den Harzbehältern zu erkennen. Auch Schwabach (I) erzielte nach 10 Tagen Grünfärbung. Hingegen fand Tunmann (III, 10) die Harze oft noch nach 1 Monat gelb und weich und erst nach Verlauf von mindestens 2 Monaten hart und tiefgrün. Bei vielen Harzen konnte überhaupt keine Färbung erzielt werden.

Anilintinktur. Hanstein (I) verwendete eine alkoholische Lösung von Anilinviolett und Rosanilin zu etwa gleichen Teilen. Das Harz wird rein blau, etwa vorhandenes Gummi oder Schleim verschieden rot. Er benutzte dieses Reagens zum Nachweis der Harze und Gummiharze, die an den Blattknospen vieler dikotyler Pflanzen in Form eines Klebstoffes abgeschieden werden. Manche Balsame färben sich damit span- bis olivengrün. Die Harztröpfchen von Alnus wurden zum Teil blau, zum Teil rötlich. Tunmann (III, 9) hält die Probe für unsicher, da eine reine Blaufärbung des Harzes nur selten gelingt.

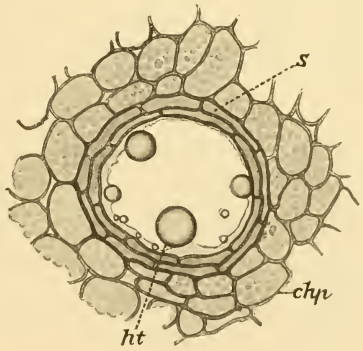


Fig. 61.
Harzgang des Tannenblattes im Querschnitt. 2 Schichten Sekretzellen *s*, die nach innen Harztropfen *ht* abscheiden. Um den Harzgang Chlorophyllparenchym *chp*. Vergr. 180.

Zucker und Schwefelsäure geben bekanntlich mit Eiweißkörpern eine rosenrote Färbung, die sogenannte Raspailsche Reaktion. Dieselbe Färbung, geben, abgesehen von gewissen Fetten, auch viele Harze. Bringt man auf eine Visitkarte, die mit harzsaurer Tonerde geleimt ist, ein Tröpfchen konzentrierter Zuckerlösung und knapp daneben ein Tröpfchen konzentrierter Schwefelsäure, so färbt sich nach Vereinigung der Tröpfchen die betreffende Stelle nach einiger Zeit

schön rot (Molisch II). Die Ursache ist das Harz. Auf diese Weise läßt sich die Harzleimung nachweisen. Auch im Gewebe läßt sich diese Probe mit Erfolg verwerten, nur wird man natürlich auf etwa gleichzeitig vorhandenes Eiweiß oder Fett besonders achten müssen, um Verwechslungen zu vermeiden.

Sitz. Die Harze und ätherischen Öle (Terpene) finden sich in der Regel in schizogen oder lysigen oder schizolysigen entstandenen Interzellularen, die häufig von eigenartigen, die Sekretion bedingenden Zellen umschlossen sind, oder in Zellen selbst. Das Tannenblatt läßt am Querschnitt (Fig. 60) rechts und links je einen Harzgang *h* erkennen, der sich aus zwei Schichten schmaler Zellen, den Sekretzellen zusammensetzt, die in den eigentlichen Gang das Harz (*ht*) abscheiden (Fig. 61).

Über die Frage, wo das Harz oder das ätherische Öl entsteht, ob es im Innern der Sekretzellen auftritt und dann erst nach außen abgeschieden wird, oder ob es erst in der Wand selbst seinen Ursprung nimmt, herrscht heute noch keine Einigung. Tschirch (I, 1095) und seine Schule (Tunmann III) verteidigen auf Grund ausgedehnter Untersuchungen die Ansicht, daß das Harz z. B. bei den Haaren in einer subkutikularen schleimigen Schicht, in der sogenannten „resinogenen" Membranschicht, also abgetrennt vom Plasma, gebildet wird. Die nebenstehende Fig. 62 stellt ein Pelargonium-Drüsenhaar dar, dessen kugelige Endzelle als Drüse fungiert und unter der Kutikula (*c*) ätherisches Öl absondert. Sowie die Sekretion beginnt, hebt sich die Kutikula (*c*) ab, und zwischen ihr und der äußersten Membranschicht (*r*), der resinogenen Schicht, sammelt sich das Öl in Tropfen an (*oe*). Diese letztere ist es, in der nach Tschirch das Öl entsteht. Für diese Auffassung spricht jedenfalls die Tatsache, daß im Lumen dieser Sekretzellen niemalz Harz oder Öl weder optisch noch chemisch nachzuweisen ist.

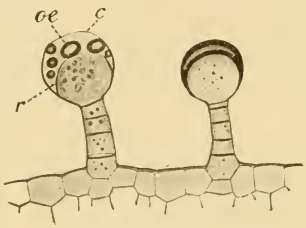


Fig. 62.
2 Drüsenhaare von Pelargonium zonale W. In der kugeligen Endzelle hat sich zwischen der Kutikula *c* und der äußersten Membranschichte *r* ätherisches Öl *oe* angesammelt. Vergr. 250.

γ) Kautschuk.

Unter Kautschuk versteht man gewöhnlich den erhärteten Milchsaft verschiedener tropischer und subtropischer Pflanzen. Der sogenannte Rohkautschuk besteht aus einem Gemenge mehrerer Substanzen: Reinkautschuk $C_{10}H_{16}$, Kautschukharz, Kohlehydraten, Eiweiß, anorganischen Verbindungen u. a. — Den Hauptanteil machen Kohlenwasserstoffe $(C_{10}H_{16})_n$ aus, die nach Harries dimethylierte Cyklooktadiënringe sind.

Vorkommen.

Kautschuk ist in Milchsäften sehr verbreitet: bei Euphorbiaceen, Apocyneen, Asclepiadeen, Sapotaceen, Campanulaceen und Moraceen (Mikosch I), mehrfach auch bei Kompositen (Grafe, Linsbauer I). Seltener tritt Kautschuk nicht in Milchröhren, sondern in Sekretzellen auf, z. B. bei Wimmeria in den Zellen des

Bastes (Metz I), bei zahlreichen Hyppocrateaceen (Solereder I, Fritsch I) und im Parenchym der Früchte der beiden Loranthaceen Strutanthus und Phtirusa (Iltis I).

Mikrochemisches. Der frische Milchsaft der Pflanzen erscheint im Mikroskope gewöhnlich als eine Flüssigkeit, in der unzählige Kügelchen, je nach der Pflanzenart von sehr verschiedener Größe, schweben. Sie sind entweder fast unmeßbar klein, schon an der Grenze der mikroskopischen Wahrnehmung (Euphorbia) oder sie erreichen die Größe von mehreren Mikronen, wie die Kautschukkügelchen der Artocarpeen, Moreen und anderer Familien. Dazwischen gibt es mannigfache Übergänge. Die Fig. 63 zeigt das mikroskopische Bild des frischen Milchsaftes von Ficus elastica, dessen relativ große Kügelchen aus Kautschuk bestehen.

Über den mikroskopischen Nachweis des Kautschuks habe ich mich seinerzeit folgendermaßen ausgesprochen (Molisch III, 53): Ich habe viele Versuche angestellt, um mikrochemische Methoden ausfindig zu machen, welche es gestatten würden, z. B. Kautschukkügelchen von Kügelchen des Harzes zu unterscheiden und im Milchsafte mikrochemisch als solche nachzuweisen, allein ich bemerke gleich im voraus, daß mich meine Resultate nicht befriedigt haben. Immerhin will ich einige Tatsachen anführen, welche bei der mikrochemischen Analyse Beachtung verdienen.

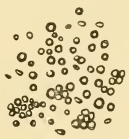


Fig. 63. Kautschukkügelchen im Milchsafte von Ficus elastica. Vergr. 350.

Wenn man auf die Kügelchen des Milchsaftes von Ficus elastica absoluten Alkohol einwirken läßt, so löst sich der größte Teil der Kügelchen auf, es bleibt aber ein unlöslicher Rest. Bei Broussonetia papyrifera und Ficus Carica kann auch eine Art Hülle zurückbleiben. Daraus geht hervor, daß diese Kügelchen zum mindesten aus zwei Substanzen bestehen, einer in absolutem Alkohol löslichen und einer darin unlöslichen. Diese letztere dürfte vornehmlich aus Kautschuk bestehen, da ja Kautschuk gleichfalls in Alkohol unlöslich ist und da sich dieser Rest bei Zufluß von Wasser und bei sanftem Druck auf das Deckglas leicht zu wurstartigen Massen ballen läßt, die die physikalischen Eigenschaften des Kautschuks erkennen lassen. Lösend wirken auf die genannten Kügelchen auch Äther, Benzol und Schwefelkohlenstoff. Hingegen sind sie unlöslich in Wasser, Glyzerin, verdünnten Säuren und Alkalien. Bei Behandlung mit Chloralhydrat (5 Teile Chloralhydrat auf 2 Teile Wasser) quellen sie unter dem Deckglas momentan um das Mehrfache ihres Volumens oft zu unregelmäßigen, amöbenartigen Klümpchen auf, die sich dann noch zu größeren Ballen vereinigen können. Spezialreaktionen auf Kautschuck kennt man nicht und es ist daher tatsächlich nicht gerade leicht und in allen Fällen möglich, Kautschukkügelchen von Fett- oder Harztröpfchen zu unterscheiden, zumal die Löslichkeitsverhältnisse der drei genannten Substanzen vielfach übereinstimmen und Osmiumsäure nicht bloß Fett-, sondern auch Kautschuktröpfchen bräunt. Bemerkenswert ist, daß Kautschukkügelchen von Ficus elastica und vielen anderen von mir geprüften Pflanzen mit konzentrierter Zuckerlösung und Schwefelsäure sehr schön die Raspailsche Reaktion geben, sich also in verschiedenen Nuancen rot-violett färben. Diese Färbung beruht nicht etwa auf einer Reaktion von Eiweiß, denn dieses ist im Ficus-Milchsaft nur in geringen Mengen vorhanden, son-

dern rührt vom Kautschuk her. Da auch diese Reaktion vieldeutig ist, bleibt nichts anderes übrig als möglichst viele Eigenschaften des Kautschuks beim mikroskopischen Nachweis heranzuziehen und dabei auch die Makroanalyse zu beachten.

VI. Gerbstoffe.

Es sei gleich bemerkt, daß mit diesem Worte kein bestimmter chemischer Begriff verbunden werden darf, da unter Gerbstoffen in der Botanik ganz verschiedene, miteinander gar nicht verwandte Körper bezeichnet werden. Ursprünglich war der Begriff ein rein praktischer. Substanzen, die zum Gerben der tierischen Haut dienten, nannte man Gerbstoffe oder Gerbsäuren. Sie geben mit Eisenchlorid eine blaue oder grüne Färbung oder Fällung und werden mit Leimlösung gefällt.

Da nun später noch zahlreiche andere, ungenau bekannte Substanzen zufällig auch die erwähnten Reaktionen gaben, so zählte man sie auch zu den Gerbstoffen, wodurch der Begriff ganz unscharf wurde. So sagt Beilstein (I) mit Recht: „Es werden gegenwärtig unter der Bezeichnung Gerbstoffe eine Reihe verschiedenartiger Körper zusammengefaßt, denen eigentlich nur die Eigenschaft gemeinsam zukommt, mit Eisenchlorid eine blaue oder grüne Färbung zu erzeugen. Diese Verbindungen haben meist einen zusammenziehenden Geschmack, werden von Leimlösung gefällt, reduzieren die Lösungen der edlen Metalle, absorbieren in Gegenwart von Alkalien Sauerstoff und bräunen sich dabei. Sehr häufig schlagen sie sich auf der frischen tierischen Haut nieder, aber nicht immer wird hierbei eine Gerbung bewirkt, d. h. der Haut die Fähigkeit zu faulen benommen und zu dem geschmeidigen „Leder“ auszutrocknen . . . Die Gerbstoffe sind meist saurer Natur.“ Wenn man aber bedenkt, daß Eisenchlorid nicht bloß mit Säuren (Salicylsäure, Gallussäure), sondern auch mit Phenolen, Alkoholen, Aldehyden usw. Färbungen erzeugt, so ist wohl anzunehmen, daß die jetzt als Gerbstoffe bezeichneten Körper den verschiedensten Körperklassen der organischen Chemie angehören. So wie die Gruppe der Farbstoffe und Bitterstoffe keine natürliche Gruppierung bedeuten, so auch die der Gerbstoffe. Reinitzer (I), der auf diese Verhältnisse besonders aufmerksam gemacht hat, macht daher sogar den Vorschlag, die allgemeinen Bezeichnungen „Gerbstoffe“ und „Gerbsäuren“ nur auf die technische Chemie und die Praxis zu beschränken. Wenn der Botaniker trotzdem im allgemeineren Sinne von Gerbstoffen spricht, so wird er sich den oben berührten Sachverhalt stets vor Augen halten und bei seinen Schlüssen, besonders wenn makroanalytische Belege fehlen, die nötige Vorsicht und Reserve beobachten müssen. Genaueres über die Definition der Gerbstoffe findet man bei Dekker (I) und Freudenberg (I).

Nach den neuesten Untersuchungen müssen die natürlichen Gerbstoffe als mehrwertige Phenolderivate aufgefaßt werden. Sie zeichnen sich durch eine gewisse Häufung von Hydroxylen im Molekül und eine begrenzte Wasserlöslichkeit in ihrer kristallisierten Form aus. Sie sind alle im kalten Wasser schwer, im heißen Wasser leichter löslich und binden Kristallwasser. Kristallisieren sie nicht, so sind sie im Wasser leichter löslich.

Nachweis.

Die zum Nachweis von Gerbstoffen verwendeten Reagentien sind hauptsächlich entweder Eisen- oder Kupfersalze, durch die die entsprechenden Gerbstoffverbindungen gebildet werden, oder oxydierende Körper, die charakteristische Reaktionen vielfach noch unbekannter Natur hervorrufen.

a) Eisensalze.

Eisenvitriol. Loew und Bokorny (I, 370) empfehlen eine wässerige, kalt bereitete konzentrierte Lösung. Erwärmen auf 60° beschleunigt das Eindringen des Eisenvitriols und die Reaktion. Um z. B. in Spirogyra Gerbstoff nachzuweisen, läßt man die Fäden 12 bis 24 Stunden in der Lösung bei Luftzutritt liegen. Bei Anwesenheit von Gerbstoff werden sie blau.

Eisenchlorid in verdünnter wässeriger Lösung wirkt ähnlich. Ein Überschuß der gewöhnlich sauer reagierenden Lösung ist zu vermeiden, weil sich die gebildeten gerbsauren Eisenverbindungen darin leicht lösen, auch diffundieren die Eisensalze langsam.

H. Moeller (I, p. LXVII) verwendet daher, um eine schnellere Wirksamkeit zu erzielen, wasserfreies Eisenchlorid in wasserfreiem Äther gelöst, ferner Eisenacetat in Form der tinctura ferri acetici, wo es sich um raschen Nachweis der Gerbsäure oder um die Verwendung großer Gewebestücke handelt.

Wisselingh (I, 161) empfiehlt Ferrichlorid, Ferrisulfat, Ferriammoniumsulfat und Ferrizitrat in 1—10proz. Lösung.

b) Kupferacetat

führte Moll (I) zum Nachweis von Gerbstoff ein und kombinierte es gleichzeitig mit dem Eisenreagens. Er verfährt in folgender Weise: Die Pflanzenteile werden in kleinen Stücken lebend in eine gesättigte Lösung von Kupferacetat (7%) gebracht und hier 8 bis 10 Tage belassen. Die nach dieser Zeit gemachten Schnitte werden für einige Minuten in einen Tropfen Eisenacetatlösung (0,5%) auf den Objektträger getaucht, in Wasser abgespült, in Alkohol zur Entfernung von Chlorophyll und Luft gelegt und schließlich in Glyzerin untersucht. Der Inhalt der gerbstoffführenden Zellen wird sehr dunkel, fast schwarz gefärbt, und hebt sich von den farblosen Wänden scharf ab. Der Unterschied zwischen eisengrünenden und eisenbläuenden Gerbstoffen gibt sich deutlich zu erkennen. So werden in Zweigen von Fagus die Zellen der Rinde grün, die des Markes aber blau.

Beabsichtigt man den Zellinhalt gleichwertig zu fixieren, so ist es nach Klercker (I, 8) zweckmäßig, an Stelle der wässerigen Kupferacetatlösung eine konzentrierte alkoholische Lösung dieses Salzes, die im Dunkeln aufzubewahren ist, zu verwenden.

c) Kaliumbichromat

liefert mit Gerbstoffen einen voluminösen, kastanienbraunen Niederschlag (Sanio I, 17), der im Überschuß des Reagens ungelöst bleibt und wie Moeller (I) vermutet, vielleicht Purpurogallin oder ein ihm nahestehender Körper sein dürfte. Verwendet wird eine konzentrierte wässerige Lösung dieses Salzes. Darin werden die Pflanzenteile für ein oder mehrere Tage eingelegt, ausgewaschen, geschnitten und schließ-

lich in Glyzerin untersucht. Um die Reaktion zu beschleunigen, verwendet man entweder eine kochende Lösung (Klercker I, 8) oder man fügt dem Reagens einige Tropfen Essigsäure hinzu (Moeller I, p. LXX).

Ähnlich wie Kaliumbichromat wirkt auch verdünnte (1%) Chromsäure, sie fixiert auch gleichzeitig den Zellinhalt. Zu beachten ist, daß auch verschiedene, nicht zu den Gerbstoffen gehörige Körper mit Kaliumbichromat ähnliche Färbungen und Fällungen geben (Nickel I, 73).

d) Osmiumsäure.

Da Gerbstoffe meist stark reduzierende Eigenschaften haben, so können sie bei Silber-, Quecksilbersalzen und insbesondere auch bei Osmiumsäure eine Schwärzung hervorrufen. Es entsteht mit Osmiumsäure eine bläuliche, himmelblaue oder braune Lösung, deren Färbung vielleicht auf einer äußerst feinen Verteilung reduzierten Osmiums beruht, oder eine schwarze Fällung. Fügt man zuerst zu dem Schnitt etwas Salzsäure und dann einige Tropfen Osmiumsäure (1%) zu, so bildet sich fast sofort eine blaue Färbung oder Fällung (Dufour I, 3 d. Sep.). Von Gerbstoff durchtränkte Eiweißkörper färben sich mit Osmiumsäure braun, wie man sich leicht an den Stachelkugeln im Zellinhalt von Nitella überzeugen kann (Overton I, 5).

e) Molybdänsaures Ammon.

Eine Lösung von diesem Salz in konzentriertem Chlorammonium gibt mit Gerbstoffen einen reichlichen gelben Niederschlag. Sie gibt mit Digallussäure eine rote Färbung. Die Verbindung mit Gallussäure ist in Chlorammonium löslich, die mit Tannin nicht (Gardiner I).

Wisselingh (I, 163) arbeitete bei seinen Versuchen mit Spirogyra mit einem Gemisch von gleichen Teilen 25proz. Ammoniumchloridlösung, 5proz. Ammoniummolybdatlösung und dest. Wasser.

f) Natriumwolframat.

Da die mit dem vorigen Reagens (*e*) erhaltenen Gerbstoffniederschläge in Wasser und verdünnten Säuren löslich sind und das Reagens sehr wenig haltbar ist, schlug Braemer (I) ein neues vor, nämlich Natriumwolframat mit Natriumacetat nach folgendem Rezept: Natriumwolframat 1 g, Natriumacetat 2 g und destilliertes Wasser 10 ccm. Dieses Reagens fällt die Gallussäure braun, die Gallusgerbsäure fahlgelb. Die Anwesenheit von konzentrierter Weinsäure oder Zitronensäure verhindert die Reaktion. Mit Eiweißstoffen und den Gerbstoffen ähnlichen Körpern treten keine Fällungen ein, die letzteren geben nur gelbe Töne, während die eigentlichen Gerbsäuren strohgelbe Niederschläge liefern, die in Wasser, in sauren und basischen Salzlösungen unlöslich sind. Die Reaktion tritt momentan ein und ist sehr empfindlich. Der Niederschlag erscheint als eine granulöse gelbe Masse im Inhalte der Zelle.

g) Alkalikarbonate.

Natrium-, Kalium-, Ammoniumkarbonat, Chlorammonium und freies Ammoniak geben mit Gerbstoffen festweiche Niederschläge,

Bikarbonate aber nicht (Klercker I). Es entstehen kugel- oder stäbchenförmige Körper, die, eben entstanden, nach dem Auswaschen des Karbonats sich wieder lösen, nach längerem Bestehen aber ungelöst bleiben. Da solche Fällungen gewöhnlich nur in gerbstoffhaltigen Zellen entstehen und die erwähnten Fällungen auch andere Gerbstoffreaktionen zeigen, so muß man wohl annehmen, daß es sich hier um Gerbstoffe handelt.

Verwendet werden 1 bis 5proz. Lösungen der Alkalikarbonate, in die man die Schnitte einlegt. Oder man kultiviert die Pflanzen in sehr verdünnten 0,02proz. Lösungen. Als Versuchsobjekt sei empfohlen: Spirogyra.

h) Methylenblau.

Pfeffer (I, 186) hat gezeigt, daß viele Pflanzen aus sehr verdünnten Methylenblaulösungen den Farbstoff mit großer Gier aufnehmen, im Zellinhalt speichern und hier sogar oft in kristallisierter Form ausscheiden. Der Farbstoff geht mit gewissen Stoffen Verbindungen ein und als eine sehr häufige wurde die des Methylenblaus mit Gerbstoff erkannt. Klercker (I) bezeichnet Methylenblau geradezu als das empfindlichste Gerbstoffreagens. Er empfiehlt es besonders für Wasserpflanzen und Wurzeln. Als Kulturflüssigkeit verwendet man einen Teil Methylenblau in 500000 Teilen filtrierten Regenwassers. In dieser Lösung verbleiben die Objekte 1 bis 24 Stunden. Zunächst entsteht bei Gegenwart von Gerbstoff ein schwach blauer Vakuolen- oder Zellsaft, woraus nachher ein blauer Niederschlag ausfällt. Die Reaktion ist wertvoll, weil sie direkt mit der lebenden Zelle eintritt und sich intra vitam beobachten läßt. Aber auch diese Probe ist nicht eindeutig, da der Farbstoff auch von anderen Substanzen, z. B. von Phloroglucin gespeichert wird; ja Wisselingh (I, 177) kommt überhaupt zu dem Schlusse, daß dem Methylenblau als Gerbstoffreagens kein Wert beizulegen ist. Gute Versuchsobjekte für die Reaktion sind: Zygnema cruciatum, Mesocarpus, Wurzel und Stengel von Salix, Keimlinge von Polygonum fagopyrum usw.

i) Jod.

Sperlich (I) empfiehlt neuestens freies Jod als ein ausgezeichnetes Gerbstoffreagens, das sich den üblichen Gerbstoff-Reagentien gleichwertig an die Seite stellen läßt. Er fand, daß freies Jod in Spuren ohne Schädigung des lebenden Plasmas in die Zelle dringt und die im Zellsafte gelösten Gerbstoffe zur allmählichen Bildung fester, nahezu unangreifbarer, wahrscheinlich den Phlobaphenen nahestehender Körper von verschieden getönter brauner Farbe veranlaßt.

Sperlich verfährt in folgender Weise: In ein kleines ungefähr 5 ccm fassendes Glasröhrchen gibt man einen 1—2 qmm messenden Jodsplitter und gießt 1 ccm Wasser darauf. Nun werden einige wenige frische Schnitte in das noch völlig farblose Jodwasser eingeführt, ohne zu schütteln. In diesem mit einem Korkpfropf verschlossenen Gläschen verbleiben die Schnitte höchstens 12—24 Stunden und werden dann zur Differenzierung in Alkohol übertragen. Dieser entzieht das reichlich gespeicherte Jod den Holzzellwänden, dem Plasma und anderen Bestandteilen der Zelle, aber nicht den braunen gefällten Gerbstoffkörpern, die sich in dem aufgehellten Schnitte um so mehr abheben. Der Vorteil der Jodgerbstoff-Reaktion liegt in ihrer Sauberkeit und in der gleichzeitigen und kontrastreichen Hervorhebung von Gerbstoffen und Stärke im Gewebe.

Zum Schlusse sei nochmals betont, daß keine von den angeführten Reaktionen mit Sicherheit Gerbstoff erweist, es ist ja dies auch schon mit Rücksicht auf den höchst schwankenden Begriff Gerbstoff unmöglich. Man wird daher tunlichst unter Berücksichtigung der Makroanalyse möglichst viele der angeführten Proben kombinieren und sich nicht bloß auf eine verlassen.

Von Autoren, die sich in neuerer Zeit mit dem Nachweis von Gerbstoffen beschäftigten, seien noch genannt: Lidforss (I), Marpmann (I), Manea (I) und besonders Wisselingh (I). Dieser prüfte über 60 Gerbstoffreagentien, darunter auch die bereits angeführten, auf ihre Brauchbarkeit an Spirogyra maxima und kam zu dem Ergebnis, daß der Gerbstoff dieser Alge dem Tannin sehr ähnlich ist, daß er im Zellsaft vorkommt und daß die Niederschläge, die Ammoniumkarbonat, Koffein, Antipyrin und andere basische Stoffe darin hervorrufen, Gerbstoff- und keine Eiweißniederschläge sind. Er erblickt namentlich in der 1proz. wässerigen Lösung des Koffeins und Antipyrins zwei ausgezeichnete Gerbstoffreagentien, weil sie sich in ganz besonderem Grade dazu eignen, Versuche über die physiologische Bedeutung des Gerbstoffes an der lebenden Pflanze anzustellen, ohne ihr zu schaden. Das von Czapek eingeführte Phenylhydrazin verwendet Wisselingh (I, 167) in konz. Lösung.

Vorkommen und Sitz.

Die Gerbstoffe finden sich im Pflanzenreiche von den Algen bis zu den Dikotylen aufwärts so weit verbreitet vor, daß man von einer speziellen Aufzählung hier absehen kann, zumal die wichtigeren Vorkommnisse ziemlich vollständig von Czapek (II) zusammengestellt worden sind. Da vielfach, namentlich bei den Kryptogamen, nur mikrochemische Reaktionen vorliegen, läßt sich natürlich darüber nichts Bestimmtes sagen, ob die hier mit Eisensalzen oder anderen Stoffen reagierenden Körper den Gerbstoffen der Phanerogamen, mehrwertigen Phenolen oder anderen Verbindungen entsprechen.

Der Gerbstoff findet sich nie im Plasma und Zellkern, sondern ursprünglich stets im Zellsaft vor. Entweder im großen Zellsaftraum oder in besonderen Behältern, in Plasmavakuolen, die durch Verschmelzung kleiner, Gerbstoff führender Safträume gebildet werden. Seltener tritt der Gerbstoff in Form von nicht flüssigen amorphen Massen auf (Marsilia, Doronicum) oder in der Zellmembran (Gibbaldia und Faba).

Jüngst hat v. Schoenau (I) im Anschluß an eine Beobachtung von Goebel (I) auf die eigentümliche Verfärbung der Blätter bei Polytrichaceen aufmerksam gemacht, die auf einer Oxydation des in der Membran befindlichen Gerbstoffs beruht. Legt man einen Rasen von Polytrichum commune in Leitungswasser, so tritt eine starke, bis ins Schwarze gehende Bräunung ein, ohne daß die Blätter dabei abzusterben brauchen. Derselbe Versuch, mit destilliertem Wasser durchgeführt, gibt keine Verfärbung. Wie bereits Czapek (I, 365) dargetan hat, enthalten die Membranen zahlreicher Moose, besonders reichlich die Dicranaceen Gerbstoff („Dicranumgerbsäure"), und dies ist auch bei den Polytrichaceen der Fall. Unter dem Einfluß der alkalischen Substanzen des Leitungswassers oder absichtlich zugesetzter, verdünnter alkalischer Verbindungen nehmen die gerbstoffführenden Membranen von Polytrichum infolge der Oxydation des Gerbstoffs eine braune Färbung an, die dann in einer Braunfärbung der ganzen Blätter zum Ausdruck kommt.

Häufig werden die Membranen postmortal vom Zellinhalt aus mit Gerbstoff infiltriert, wie das in vielen Rinden und Hölzern der Fall ist. — Die Gerbstoffe erfüllen entweder ganze Zellkomplexe (viele Rinden, Hölzer, Gallen) oder nur einzelne Zellen, wie die Gerbstoffidioblasten von Sedum- und Echeveria-Arten, die Gerbstoffschläuche in Mark und Rinde von Sambucus nigra. Speichert ein Gewebe Stärke und Gerbstoff, so werden in der Regel beide Stoffe nicht in einer und derselben Zelle aufgestapelt. Abbau des einen Stoffes läuft der Speicherung des anderen gewöhnlich parallel und in inhaltlich homogenen Geweben räumt im Laufe der Entwicklung der eine Körper dem anderen das Feld (Sperlich I, 151). Durch Sauerstoffaufnahme bilden sich in den Rinden, im Kernholz und anderen Geweben aus Gerbstoffen eigenartige braune oder braunrote Farbstoffe, die von Stähelin und Hofstetter (I) als Phlobaphene bezeichnet wurden. Ihre Mutter-substanzen sind ursprünglich gewöhnlich im Zellinhalt gelöst, werden aber später häufig von den Membranen absorbiert. Hierher gehören das aus der Chinagerbsäure entstehende Chinarot, das sich aus der Eichengerbsäure bildende Eichenrot, das Tormentillrot, Zimtrot, Filixrot, das Kinorot, Catechurot und verschiedene andere (Tschirch II). Die Phlobaphene treten im Zellinhalt oder in der Zellhaut oder in beiden auf. Zahlreiche Rinden verdanken den Phlobaphenen ihre Farbe. Auch die sklerotischen braunen Zellwände vieler Farne sind durch Phlobaphene gefärbt (Walter I, 18). Da es für sie derzeit keine spezifischen mikrochemischen Reaktionen gibt, soll hier nicht näher auf diese Stoffe eingegangen werden.

Literatur

zu p. 141 bis 176.

Abderhalden, E., I. Biochemisches Handlexikon 1911, Bd. IV, p. 681.

Bamberger, M., I. Die Harze. In Wiesners „Die Rohstoffe des Pflanzenreichs“ 1900, II. Aufl., Bd. I, p. 130.

Behrens, J., I Über das Vorkommen des Vanillins in der Vanille. (Der Tropenpflanzer 1899, Jg. 3, p. 299.)

Behrens, H., I. Anleitung zur mikrochemischen Analyse. 1907, Abt. 4, p. 71.

Beilstein, F., I. Handbuch der organischen Chemie 1890, 2. Aufl., p. 431.

Bertel, R., I. Über Tyrosinabbau in Keimpflanzen. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1902, Bd. XX, p. 454.)

Borodin, J., I. Über die physiologische Rolle und die Verbreitung des Asparagins im Pflanzenreiche. (Bot. Ztg. 1878, Jg. 36, p. 816.)

—, II. Über einige bei Bearbeitung von Pflanzenschnitten mit Alkohol entstehende Niederschläge. (Bot. Ztg. 1882, Jg. 40, p. 589.)

Borščow, El., I. Beiträge zur Histogenie der Pflanze. (Bot. Ztg. 1874, p. 17.)

Braemer, L., I. Un nouveau réactiv histo-chimique des tannins. (Bull. soc. d'Hist. Nat. de Toulouse. Séance d. 23. janvier 1889. Ref. Ztschr. f. Mikr. 1889, Bd. VI, p. 114.)

Braun, I. Über das Vorkommen von Sphärokristallen aus Traubenzucker in den verschiedenen Drogen. (Ztschr. d. allg. österr. Apoth.-Ver. 1878, Bd. XVI, p. 341.)

Brissemoret, A. u. Combes, R., I. Über eine Reaktion der Oxychinone. (Journal Pharm. Chim. [6], 25, p. 53—58. Ref. Chem. Zbl. 1907, Jahrg. 78, p. 994.) — II. Sur le juglon. (Comptes rend. 1905, T. CXLI, p. 838.)

Busse, W., I. Studien über die Vanille. (Arbeit a. d. Kais. Gesundheitsamte 1898, Bd. XV.)

Cazeneuve und Hugounenq, I. Bull. de la Soc. chim. 1888, 49, p. 399.

Czapek, F., I. Zur Chemie der Zellmembranen bei den Laub- und Lebermoosen. (Flora 1889, Bd. LXXXVI.)

—, II. Biochemie der Pflanzen. Jena 1920. Bd. III, p. 504.

—, III. Zur Kenntnis der silberreduzierenden Zellsubstanzen in Laubblättern. (Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. 1920, p. 246).

—, IV. Über die sogenannten Ligninreaktionen des Holzes. (Zeitschr. f. physiol. Chemie 1899).

Dekker, J., I. Die Gerbstoffe. Berlin 1913.

Dohrn und Thiele, I. Abderhaldens biochemisches Handlexikon. Bd. I, 2. Hälfte, 1911.

Dufour, J., I. Notices michrochimiques sur le tissu épidermique des végéteaux. (Bull. de la Soc. vaud. d. Sc. nat. Vol. XXII, No. 94. Zit. nach Zimmermann, Bot. Mikrotechnik. Tübingen 1892.)

Flückiger, F. A., I. Pharmakognosie 1887, 1. Aufl., p. 585.

Franchimont, A. P. N., I. Zur Kenntnis der Entstehung der Harze im Pflanzenorganismus usw. (Flora 1871, p. 225.)

Freudenberg, K., I. Die Chemie der natürlichen Gerbstoffe. Berlin 1920.

Fritsch, F. E., Untersuchungen über das Vorkommen von Kautschuk bei den Hippocrateaceen usw. (Beihefte z. Bot. Zbl. 1902, Bd. XI, p. 283.)

Fünfstück, M., und Braun, R., I. Zur Mikrochemie der Droseraceen. (Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., Bd. XXXIV, 1916, p. 160).

Gardiner, W., I. The determination of Tannin in vegetable cells. (The Pharm. Journ. und Transactions, No. 709, 1884, p. 588. Ref. in der Zeitschr. f. Mikroskopie 1884, Bd. I, p. 464.)

Géneau de Lamarlière, I. Sur la présence de certaines membranes cellulaires d'une substance à réactions aldéhydiques. (Bull. de la société bot. de France. T. L. 1903, p. 268.)

Goebel, K. v., Experimentelle Morphologie der Pflanzen. 1908, p. 36.

Grafe, V., u. Linsbauer, K., I. Über den Kautschukgehalt von Lactuca viminea Presl. (Zeitschr. f. d. landw. Versuchswesen i. Österr. 1909, p. 126.)

Grafe, V., I. Untersuchungen über die Holzsubstanz usw. (Sitzungsber. d. Akad. d. Wiss. i. Wien, 1904, Bd. CXIII, p. 295).

Hanausek, T. F., I. Zur Kenntnis der Anatomie der Dattel und ihrer Inklusen. (Pharm. Post 1910, Bd. LXIII, p. 1041.)

—, II. In Wiesners Rohstoffe, 2. Aufl., Bd. II, p. 855.

Hanstein, J., I. Über die Organe der Harz- und Schleimabsonderung in den Laubknospen. (Bot. Ztg. 1868, p. 708.)

Hartwich und Winckel, I. Archiv d. Pharm. 1904, 242, p. 464.

Haushofer, K., I. Mikroskopische Reaktionen. Braunschweig 1885, p. 72.

Heyl, Gg., und Tunmann, O., I. Santoninfreie flores Cinae. (Apotheker-Ztg. Berlin 1913, Jg. 28, p. 248.)

Herrmann, O., I. Nachweis einiger organischer Verbindungen in den organischen Geweben. Diss. Leipzig 1876.

Höhnel, F. v., I. Histochemische Untersuchungen über Xylophilin und Coniferin. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. i. Wien 1877.)

Iltis, H., I. Über das Vorkommen und die Entstehung des Kautschuks bei den Kautschukmisteln. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. i. Wien 1911, Bd. CXX, Abt. I, p. 217.)

Joachimowitz, M., I. Ein neues Reagens auf Phlorogluzin, Catechin und ihre Derivate, sowie über die Verbreitung derselben im Pflanzenreiche. (Biochem. Zeitschr., Bd. LXXXII, 1917, p. 324.)

Klercker, J. af., I. Studien über die Gerbstoffvakuolen. Diss. Tübingen 1888.

Kofler, L., I. Asarum europaeum. Ein Beitrag zur Kenntnis des Rhizoms. (Pharm. Zentralhalle f. D. 1918, p. 279.)

Leitgeb, H., I. Der Gehalt der Dahliaknollen an Asparagin und Tyrosin. (Mitt. a. d. bot. Inst. z. Graz 1888, Bd. VI, p. 229.)

Lidforss, B., I. Über die Wirkungssphäre der Glykose und Gerbstoffreagentien. (Lunds Univ. Ausskr., T. XXVIII, 1892.)

—, II. Über eigenartige Inhaltskörper bei Potamogeton praelongus. (Bot. Zbl. 1898, Bd. LXXIV, p. 305.)

Lindt, O., I. Über den Nachweis von Phloroglucin. (Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie 1885, Bd. II, p. 495.)

Loew, O., u. Bokorny, Th., I. Über das Verhalten von Pflanzenzellen zu stark verdünnter alkalischer Silberlösung II. (Bot. Zbl. 1889, Bd. XXXIX.)

Lundström, A. N., I. Über farblose Ölplastiden und die biologische Bedeutung der Öltropfen gewisser Potamogeton-Arten. (Bot. Zbl., Bd. XXXV, p. 177.)

Manea, A., I. Acid. gallotann. et digall. (Thèse) Genève 1904.

Marpmann, G., I. Mikrochemischer Nachweis der Oxykarbonsäure, Gallussäure und der Gerbsäure. (Zeitschr. f. angew. M. 1900, Bd. VI, p. 6.)

Mazurkiewicz, W., I. Über die Verteilung des äther. Öles im Blütenparenchym und über seine Lokalisation im Zellplasma. (Zeitschr. d. allg. österr. Apotheker-Ver. 1913, p. 241.)

Mesnard, E., I. Rech. sur le mode de production de parfum d. l. fleurs. (Compt. rend. 1892, T. CXV, p. 892.)

—, II. Recherches sur la localisation des huiles grasses dans la germination des graines. (Ebenda 1893, T. CXVI, p. 111.)

Metz, A. I. Anatomie der Laubblätter der Celastrineen usw. (Beih. z. Bot. Zbl. 1903, Bd. XV, p. 309.)

Meyer, A., I. Das Chlorophyllkorn usw., p. 28. Leipzig 1883.

Mikosch, K., I. Über die Organe der Ausscheidung der Betuloretinsäure an der Birke. (Österr. bot. Zeitschr. 1876, Jg. 26, p. 213.)

—, II. Die Kautschukgruppe. In Wiesners „Die Rohstoffe des Pflanzenreichs". Leipzig 1900, 2. Aufl., Bd. I, p. 356.

Moeller, H., I. Anatomische Untersuchungen über das Vorkommen der Gerbsäure. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1888, Bd. VI.)

Molisch, H., I. Grundriß einer Histochemie der pflanzlichen Genußmittel. Jena 1891.

—, II. In Wiesner, J., Die mikroskopische Untersuchung des Papiers usw. Wien 1887. (Sonderabdr. d. Mitteil. a. d. Samml. d. Papyrus Erzherz. Rainer [1887], p. 43.)

—, III. Studien über den Milchsaft und Schleimsaft der Pflanzen. Jena 1901.

—, IV. Beitr. z. Mikroch. Nr. 1: Über einen leicht kristallisierenden Gerbstoff in Dionaea muscipula. (Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., Bd. XXXIII, Jg. 1915, p. 447).

—, V. Über einige Beobachtungen an Mimosa pudica. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. i. Wien, Abt. I, Bd. CXXIV, 1915, p. 507.)

—, VI. Das Chlorophyllkorn als Reduktionsorgan. (Ebenda, Bd. CXXVII, 1918, p. 449.)

Molisch, H. u. Zeisel, S., I. Ein neues Vorkommen von Cumarin. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1888, Bd. VI, p. 353.)

Moll, J. W., I. Eeene nieuwe mikrochemische looizuur eactive. [Maandlblad voor Natuurwetenschappen 1884.] (Ref. Bot. Zbl. 1885, Bd. XXIV, p. 250.)

Müller, J. N. C., I. Untersuchungen über die Verteilung der Harze, ätherischen Öle usw. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1866, Bd. V, p. 387.)

Nestler, A., I. Ein einfaches Verfahren zum Nachweis der Benzoesäure in der Preißelbeere und Moosbeere. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1909, Bd. XXVII, p. 63.)

—, II. Der direkte Nachweis des Cumarins und Theins durch Sublimation. (Ebenda 1901, Bd. XIX, p. 350.)

Netolitzky, F., Notizen über „Inklusen" in Gerbstoffidioblasten. (Österr. bot. Ztschr. 1914, p. 407—410.)

Nickel, E., I. Die Farbenreaktionen der Kohlenstoffverbindungen. Berlin 1890.

Overton, I. Beitrag zur Histologie und Physiologie der Characeen. (Bot. Zbl. 1890, Bd. XLIV, p. 5.)

Perrot, E., I. Ein neues Reagens auf äther. Öle. (L'union pharmacien 1891, p. 253.)

Pfeffer, W., I. Über Aufnahme von Anilinfarben in lebenden Zellen. (Untersuch. a. d. bot. Inst. z. Tübingen. Leipzig 1886—88. Bd. II, p. 186.)

Reinitzer, F., I. Bemerkungen zur Physiologie des Gerbstoffes. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1889, Bd. VII, p. 187.)

Sanio, C., I. Einige Bemerkungen über den Gerbstoff und seine Verbreitung bei den Holzpflanzen. (Bot. Ztg. 1863, p. 17.)

Schimper, A. F. W., I. Anleitung z. mikroskop. Untersuch. 1888, p. 87.

Schoenau, K. v., I. Laubmoosstudien I. (Flora 1913, N. F., Bd. V, p. 246.)

Schulze, I. Ztschr. f. physiol. Chemie 1894, Bd. XX, p. 308.

Schwabach, E., I. Zur Kenntnis der Harzabscheidungen in Koniferennadeln. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1899, Bd. XVII, p. 295.)

Senft, E., I. Über das Vorkommen und den Nachweis des Cumarins in der Tonkabohne. (Pharm. Praxis 1904, Jg. III, Heft 3.)

Shirasawa, H., I. Über Entstehung und Verteilung des Kampfers im Kampferbaume. (Bull. Coll. Agric. Tokyo V [1903], p. 373; Ref. Justs bot. Jahresber. 1910, Jg. 38, p. 1373.)

Singer, M., I. Beiträge zur Kenntnis der Holzsubstanz usw. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1882, Bd. LXXXV, p. 7 d. S.)

Solereder, H., I. Systematische Anatomie der Dikotyledonen. Stuttgart 1899, p. 245.

Sperlich, A., I. Jod, ein brauchbares mikrochem. Reagens für Gerbstoffe. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1917, Abt. I, Bd. CXXVI, p. 103.)

Stähelin u. Hofstetter, I. Liebigs Ann. 1844, Bd. LI, p. 63.

Tichomirow, W., I. Sur les inclusions intracellulaires du parenchyme charnu de la Datte. (Bull. d. Congr. intern. d. Bot. d. St. Petersburg 1885, p. 79.)

—, II. Sur les inclusions intracel. du parenchyme charnu de certains fruits: Datte, Kaki, Jujube etc. (Comptes rend. 1904, T. CXXXIV, p. 305 und 1907, T. CXLIII, p. 222.)

Tschirch, A., I. Die Harze und Harzbehälter usw. Leipzig 1906, Bd. I u. II, 2. Aufl.

—, II. Angewandte Pflanzenanatomie, 1889, p. 65.

—, III. Handbuch der Pharmakognosie, Jg. 34, p. 1018.

—, IV. Die Einwände der Frau Schwabach gegen meine Theorie der Harzbildung (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1901, p. 25.)

Tschirch, A. u. Shirasawa, H., I. Über die Bildung des Kampfers im Kampferbaume. (Arch. d. Pharm. 1902, Bd. CCXL, p. 257.)
Tunmann, O., I. Über den mikrochemischen Nachweis und die Lokalisation der Juglone in Juglans regia. (Pharm. Zentralhalle 1912, Jg. 53, p. 1005.)
—, II. Beiträge zur angewandten Pflanzenmikrochemie. (Handelsber. v. Gehe & Comp., Dresden 1911, Anhang, p. 155.)
—, III. Über die Sekretdrüsen. Diss. Leipzig 1900.
—, IV. Beiträge zur Mikrochemie einiger Wurzeldrogen. (Handelsber. v. Gehe & Comp., Dresden 1912, p. 165.)
—, V. Über Ferula Narthex Boissier, insbesondere über die Sekretgänge dieser Pflanze. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1912, Jg. 30, p. 245.)
—, VI. Der Nachweis der Zimtsäure, besonders in Harzen. (Pharm. Zentralhalle 1913, p. 133.)
—, VII. Der mikrochem. Nachweis des Lapachols. (Apothekerztg. 1915, 30. Jg., p. 50.)
Vogl, A. E. v., I. Kampfer in Wiesners „Die Rohstoffe des Pflanzenreichs" 1900, 2. Aufl., Bd. I, p. 548.
Waage, Th., I. Über das Vorkommen und die Rolle des Phloroglucins in der Pflanze. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1890, Bd. VIII, p. 250.)
Walter, G., I. Über die braunwandigen, sklerotischen Gewebeelemente der Farne usw. (Bibliotheca Botanica 1890, Heft 18.)
Wassilieff, I. Landwirtschaftliche Versuchsstation 1901, Bd. LV, p. 45—77.
Weinzierl, Th. v., I. Über die Verbreitung des Phloroglucins im Pflanzenreiche. (Österr. bot. Ztschr. 1876, p. 285.)
Weselsky, P., I. Zur Nachweisung des Phloroglucins und der salpetersauren Salze. (Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 1875, Jg. 8, p. 967 u. 1876, Jg. 9, Nr. 3.)
Wiesner, J., I. Note über das Verhalten des Phloroglucins und einiger verwandter Körper zur verholzten Zellmembran. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1878, Bd. LXXVII, Januarheft.)
—, II. Die Harze. In: Die Rohstoffe des Pflanzenreichs 1900, 2. Aufl., Bd. I, p. 130.
—, III. Die technisch verwendeten Gummiarten, Harze und Balsame. Erlangen 1869.
Wigand, I. Einige Sätze über die physiologische Bedeutung der Gerbstoffe und der Pflanzenfarben. (Bot. Ztg. 1862, p. 122.)
Willstätter, R. u. Stoll, A., I. Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure. Berlin 1918.
Wimmer, Chr., I. Ein neuer kristallinischer Inhaltsstoff in den unterirdischen Organen von Geranium pratense L. und seine Verbreitung innerhalb der Familie der Geraniaceae. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1917, p. 591.)
Wisselingh, C. v., I. Über den Nachweis des Gerbstoffes in der Pflanze und über seine physiologische Bedeutung. (Beih. z. Bot. Zbl 1915, Bd. XXXII, I. Abt., p. 155.)
Wuite, H., I. Beitr. z. Kenntnis des Cumarins und der cumarinhaltigen Pflanzen. Diss. Amsterdam 1913.

VII. Glykoside.

Zahlreiche organische Substanzen werden durch verdünnte Alkalien, Säuren, Enzyme oder durch andere Mittel meistens unter Aufnahme von Wasser derart gespalten, daß hierbei eine Zuckerart und eine oder mehrere andere, der aromatischen oder Fettkörpergruppe angehörige

Verbindungen entstehen. Solche Körper werden als Glykoside bezeichnet. Sie werden als ätherartige Derivate der betreffenden Zuckerarten aufgefaßt. Obwohl die Zahl der bekannten, in der Pflanze vorkommenden Glykoside eine überaus große ist, so vermag man vorläufig nur die wenigsten davon im Gewebe mikrochemisch nachzuweisen. Man weist das Glykosid entweder direkt nach (Hesperidin usw.) oder man sucht, abgesehen vom Zucker, nach dem Spaltungsprodukt und schließt aus der Anwesenheit dieses auf die Muttersubstanz, d. h. auf das Glykosid (Indikan, Amygdalin usw.).

Bezüglich der Chemie der Glykoside sei besonders auf die Monographie von VAN RIJN (I) verwiesen, der bezüglich des Vorkommens der Glykoside und bezüglich der chemischen Charakteristik viele Daten entnommen wurden. Vielen Glykosiden kommt sicher im Leben der Pflanze eine große Bedeutung zu. Es war von vornherein nicht unwahrscheinlich, daß der in ihnen steckende Zucker der Ernährung dient, und in der Tat konnte WEEVERS (I) zeigen, daß das Salicin und die Glykoside der Roßkastaniensamen als Reservestoffe fungieren.

Frangulin, $C_{21}H_{20}O_9$.

Dieser gelbe Farbstoff wurde in den Zweigen von Rhamnus Frangula L. und Rh. cathartica aufgefunden.

Eigenschaften. Frangulin kristallisiert in kleinen zitronengelben Nädelchen und Nadelsternen. Es ist in Wasser und kaltem Äther unlöslich, löslich in warmem Alkohol und Benzol. Alkalien und Ammoniak lösen es mit kirschroter und Schwefelsäure mit dunkelrubinroter Farbe. Verdünnte Mineralsäuren spalten Frangulin in Emodin und Rhamnose:

$$\underset{\text{Frangulin}}{C_{21}H_{20}O_9} + H_2O = \underset{\text{Rhamnose}}{C_6H_{12}O_5} + \underset{\text{Emodin.}}{C_{15}H_{10}O_5}$$

Nachweis. BORŠČOW (I) und CABANNES (I) benutzten die Eigenschaft des Frangulins, sich mit Ammoniak oder mit Kalilauge rot zu färben, zum mikrochemischen Nachweis. BORŠČOW fand es in den an die Markscheide anstoßenden Markzellen, in den Holzparenchymzellen der Markscheide selbst, in den dünnwandigen Elementen des Phloems und in den meisten Zellen der Phloemstrahlen.

BORŠČOW (I, 35) hat folgende Behauptung aufgestellt: „Behandelt man nämlich gewisse Gewebeschichten aus der Rinde und dem Holze von Rhamnus Frangula, deren Zellen gelbliche Körner enthalten, mit schwacher, wässeriger Jodlösung, so färben sich die Körner schmutzigblau. Läßt man nun das Präparat eine Zeitlang liegen, oder wäscht man es tüchtig mit Wasser aus, so verschwindet allmählich die bläuliche Färbung der Körner und sie erscheinen zuletzt gelblich wie vor der Behandlung mit Jodlösung. Dieselben Körner nun, welche die blaue Jodreaktion zeigen, färben sich bei unmittelbarer Behandlung mit wässerigem Ammoniak oder besser mit Kalilösung blutrot, später braunrötlich, zeigen also die für das Frangulin charakteristische Reaktion." Hier liegt sicher ein Irrtum vor. Der Sachverhalt ist vielmehr der, daß die Phloemstrahlzellen das Frangulin in Form einer schwachgelblichen Masse und außerdem noch oft reichlich Stärkekörner enthalten. Diese sind an und für sich farblos und scheinen nur, weil sie an dem oder

auf dem gelblichen Zellinhalt liegen, gelblich zu sein. Die Behauptung Borščows, daß die Körner, die sich mit Jod blau färben, sich auch mit Alkalien rot färben, ist unrichtig, denn die Blaufärbung gehört den Stärkekörnern und die Rotfärbung dem Frangulin an.

Nach meinen Erfahrungen fällt die Reaktion mit Alkalien sehr verschieden aus, je nachdem man die Droge oder einen lebenden Zweig auf Frangulin untersucht. Betupft man einen Querschnitt der Rinden*droge* von Rhamnus Frangula mit Kalilauge, so färbt er sich, gleichgültig ob er mit einem Deckglas bedeckt wird oder nicht, sofort tiefrot. Ein Schnitt durch den *lebenden* Zweig hingegen wird unter denselben Umständen, wenn er mit einem Deckglas bedeckt und dadurch von der Luft mehr oder weniger abgesperrt wird, gelb, vielleicht abgesehen von den peripheren Markzellen und einzelnen Markstrahlzellen, die schwach rötlich werden. Derselbe Schnitt mit Kalilauge betupft und nicht mit einem Deckglas bedeckt, wird nach relativ kurzer Zeit schön rot. Das *Frangulin färbt sich mit Kalilauge eben nur bei Gegenwart von Luft bzw. von Sauerstoff rot.* — In der Droge ist ein großer Teil des Frangulins schon in Emodin umgesetzt, und dieses färbt sich daher mit Kalilauge sofort rot. Sublimiert man die Droge, so erhält man gelbe Tropfen, die bei der Abkühlung oft zu einem Kristallbrei erstarren, der die Emodinreaktionen gibt. Sublimiert man die lebende Rinde, so erhält man Tröpfchen, die mit Alkalien keine oder eine kaum angedeutete Rotfärbung geben, weil in der lebenden Rinde Emodin noch nicht abgespalten ist und Frangulin nicht sublimiert.

Unter Beachtung der angegebenen Tatsachen kann man leicht feststellen, daß das Frangulin in der lebenden Pflanze in den peripheren Markzellen, in den Markstrahlen des Holzes und ganz besonders in den Phloemstrahlen seinen Sitz hat.

Hesperidin, $C_{50}H_{60}O_{27}$,

ist ein in der Familie der Rutaceen ziemlich verbreitetes Glykosid. Es wurde nachgewiesen im Fruchtfleisch der reifen und unreifen Früchte von Citrus aurantium R., C. Limonum R., C. Limetta R., C. vulgaris v. currassaviensis, C. chinensis, C. longifolia und C. mandarin, in den Blättern und Zweigen von C. aurantium, verschiedenen Diosma-, Barosma-Arten und anderen Pflanzen. Hingegen fehlt es in C. decumana, C. Bigaradia und C. vulgaris. Es kommt auch bei Umbelliferen, ferner nach Tunmann (VII) bei Hyssopus officinalis, nach Tschirch (I) bei Mentha piperita und nach Albertus (I) bei etwa 20 Arten der Labiaten in der Unterfamilie der Stachyoideen vor. Brunswik (I) untersuchte etwa 50 Lippenblütler, darunter 8 Arten von Mentha und 7 Arten von Satureja und fand bei Mentha pulegium und M. longifolia viel Hesperidin, während bei M. spicata, aquatica, verticillata, arvensis davon nichts zu finden war. Von den untersuchten Satureja-Arten erwies sich nur S. acinos (Calamintha acinos) als hesperidinhaltig. — Die in den Laubblättern von Scrophularia nodosa vorkommenden Sphärokristalle, die Vogl (I) zuerst beobachtete und vermutungsweise als Hesperidin ansprach, haben sich nach Brunswik (I) tatsächlich als Hesperidin im Sinne Tunmanns (IV) erwiesen. Dieser Forscher hat alle jene Körper, die die hauptsächlichsten Hesperidinreaktionen geben und für die eine chemische Analyse noch nicht vorliegt, zu der *Gruppe der Hesperidine* zusammengefaßt. So aufgefaßt, ist auch jener Körper hierher zu stellen, den Molisch (III) in der Oberhaut von Linaria genistifolia und zwei anderen Linaria-Arten (L. bipartita und L. reticulata) entdeckt hat.

Borodin (I) hat etwa 3000 Pflanzen auf Hesperidin geprüft, und es ist zweifellos, daß viele der von ihm festgestellten kristallisierten Ausscheidungen in die Gruppe der Hesperidine einzureihen sind.

Abgesehen von den schon genannten Gattungen und Familien ist Hesperidin noch in der Familie der Lobeliaceen, Valerianaceen, Lythraceen, Compositen, Papilionaceen und Rubiaceen festgestellt worden. In der Familie der Rubiaceen konnte Klein Hesperidin feststellen. Hier findet es sich nur in der Gattung Galium, und zwar auf den zusammenhängenden Artenkreis von G. rubrum, aristatum, Schultesii, lucidum, cinereum und mollugo beschränkt. Die Arten Schultesii, lucidum, meliodorum und cinereum enthalten Hesperidin konstant in jedem Exemplar, die beiden ersten und die letzte Art wechselnd. Bei vielen Varietäten von Galium mollugo läßt sich, unabhängig vom Klima, Standort und Alter, Hesperidin bald nachweisen, bald nicht; hier handelt es sich nach Klein (I) um systematisch nicht mehr greifbare chemische Rassen, die durch das Vorhandensein oder Fehlen des genannten Glykosids ausgezeichnet sind.

Bei Monokotylen ist Hesperidin äußerst selten; Borodin fand es nur bei Gräsern und Halbgräsern, und Brunswik (II) fand es jüngst bei Anthurium Binotii Linden im gesamten oberirdischen Hautgewebe, und zwar in derartiger Konzentration, daß es in den lebenden Zellen junger Pflanzenteile schon in Sphärokristallen ausgeschieden vorlag.

Fig. 64.
Hesperidin-Kristalle im Fruchtschalenparenchym der Zitrone. Vergr. 180.

Bezüglich der Verbreitung des Hesperidins innerhalb einer Familie oder Gattung hat sich das interessante Ergebnis gezeigt, daß das Vorkommen kein geschlossenes, sondern ein sehr sprunghaftes ist, so daß nur einige wenige Vertreter diesen Körper enthalten, wie wir z. B. an der Familie der Labiaten, Rubiaceen und Scrophularineen sehen.

Eigenschaften. Bildet aus Alkohol weiße, geruch- und geschmacklose Nadeln. Fast unlöslich in kaltem, schwer in heißem Wasser, etwas leichter löslich in Alkohol und heißem Eisessig, hingegen unlöslich in Benzol, Chloroform und Äther. — Ammoniak, verdünnte Alkalien und alkalische Erden lösen Hesperidin leicht, die Lösung wird bald gelb bis orange. Auch konzentrierte Schwefelsäure löst mit gelber Farbe. Wird Hesperidin mit etwas verdünnter Kalilauge verdampft und der Rückstand mit verdünnter Schwefelsäure erwärmt, so entstehen rote bis violette Farbentöne. Beim Erhitzen mit verdünnter Schwefelsäure wird es in Rhamnose, Glukose und Hesperetin gespalten.

Mikrochemie. Das Hesperidin kommt in der lebenden Zelle meist in gelöster Form vor. Wenn man reife oder unreife Apfelsinen (Citrus Aurantium Risso) längere Zeit in absolutem Alkohol liegen läßt, so scheidet sich, wie Pfeffer (I) gezeigt hat, das Hesperidin in Form von Sphärokristallen ab. Dasselbe kann man beim Einlegen von Fruchtstücken in Glyzerin beobachten, doch sind die Sphärokristalle hier weniger schön. Auch beim Eintrocknen der Apfelsinen kristallisiert das Hesperidin häufig in Form von Nadeln oder unvollkommenen Sphäriten heraus. Das Auskristallisieren des Glykosids in Alkohol voll-

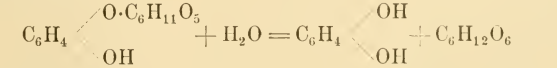
zieht sich langsam, man muß lange warten. Will man rasch zum Ziele kommen, dann empfehle ich folgendes Verfahren: Man nehme eine käufliche Zitronen- oder Orangenfrucht, schneide sie quer durch und lege die Hälften mit der Schnittfläche nach oben einfach hin. Schon nach $^1/_4$ bis $^1/_2$ Stunde bilden sich an der quer durchschnittenen Fruchtschale Nadeln, Nadelsterne, Doppelpinsel und Sphärokristalle von Hesperidin (Fig. 64). Man sollte meinen, daß man durch Verdampfenlassen eines ausgepreßten Tropfens zu demselben Ziele gelangen würde. Das ist aber nicht der Fall. Man erhält zwar mitunter auch Nädelchen und Pinselchen, aber nicht so regelmäßig und so reichlich wie bei der Transpiration der Fruchtschale. Offenbar sind hier die Kristallisationsbedingungen günstiger, schon deshalb, weil aus den unter der Schnittfläche liegenden Zellen immer neues Hesperidin nachrücken kann.

Die in dem Gewebe abgeschiedenen Hesperidinkristalle zeigen die für das reine Hesperidin erwähnten Löslichkeitsverhältnisse. Bemerkenswert ist ihre leichte Löslichkeit in wässerigen und alkoholischen Alkalien mit gelber Farbe und ihre schwere Löslichkeit in Wasser, wodurch sie sich von den äußerlich ähnlichen Inulinsphäriten unterscheiden. Die Hesperidinkristalle sind doppelbrechend, und die Sphärite verhalten sich im polarisierten Lichte ganz ähnlich wie die des Inulins. Das Hesperidin tritt nach Pfeffer nicht bloß in den Früchten auf, sondern auch in allen Achsen (Mark und Rinde), Blattorganen und der Blüte der Apfelsine. Im Fruchtknoten der Blütenknospe und in den unreifen Früchten ist es besonders reichlich. In der Frucht enthalten es alle parenchymatischen Zellen des Fruchtfleisches und der Pulpa.

Arbutin (Hydrochinonglukosid), $C_{12}H_{16}O_7$.

Vorkommen. Ein bei Ericaceen und Pirolaceen weit verbreitetes Glykosid. Es wurde gewonnen aus Pirola umbellata, P. rotundifolia, P. chlorantha, P. elliptica, Calluna vulgaris, Ledum palustre, aus Vaccinium-Arten, Epigaea repens, Gaultheria procumbens, Arctostaphylos glauca und Chimaphila maculata. Auch im Birnbaum, besonders in der Rinde, wurde Arbutin gefunden. Weevers (I u. II) hält es für einen Reservestoff.

Eigenschaften. Arbutin kristallisiert aus Lösungen in langen, feinen, bitterschmeckenden Nadeln und Prismen, die in Äther und kaltem Wasser wenig, in Alkohol und heißem Wasser leicht löslich sind. Durch verdünnte Säuren und Emulsin wird es in Glykose und Hydrochinon gespalten.



Mikrosublimation. Das Arbutin läßt sich direkt nicht gut sublimieren, wohl aber, wie Tunmann (III) gezeigt hat, sein Spaltungsprodukt, das Hydrochinon. „Das zu untersuchende Pflanzenmaterial wird möglichst gepulvert. Das Pulver wird auf dem Objektträger mit 2 bis 3 Tropfen verdünnter Salzsäure (1 : 10) mit einem Glasstabe vermischt und einige Minuten liegen gelassen. Alsdann bringt man

das Gemisch auf eine Asbestplatte, legt einen zweiten Objektträger in 3 mm Abstand als Rezipienten auf und sublimiert. Bei einer 10 mm hohen Spiritusflamme und bei 50 mm Abstand des Objektes von der Flammenbasis lassen sich innerhalb 5 Minuten aus 0,03 bis 0,05 g Substanz 3—4 kristallinische Sublimate erzielen" (Tunmann III, 315). Hydrochinon ist bekanntlich dimorph. Man erhält aus Lösungen hexagonale Prismen, bei der Sublimation kleine monokline Blättchen. Bei der Sublimation können aber auch beide Kristallformen auftreten: Prismen, monokline Blättchen, x-förmige Kristallskelette, tannenbaumartige Gebilde und andere. Durch Anhauchen verschwinden sie momentan. Sie lösen sich leicht in Wasser, Alkohol, Äther, Anilin, Aceton und Ammoniak, nicht in Benzol. Verdünntes Eisenchlorid löst die Kristalle vorübergehend mit schwarzer Farbe. Die Lösung erscheint über einem weißen Grund grünlich. Charakteristisch ist das Verhalten der Hydrochinonkristalle zu Ammoniak. Sie nehmen darin sofort oder nach einer Stunde eine rotbraune Färbung an. Beim Verdampfen des Tröpfchens scheiden sich Kristalle aus: farblose oder gelbliche Prismen und x-förmige Kristalle.

Auf die geschilderte Weise erhielt Tunmann durch Mikrosublimation Hydrochinonkristalle aus den Blättern von Arctostaphylos Uva ursi, Vaccinium Myrtillus, Kalmia angustifolia und Pirola rotundifolia.

Der vorliegende Fall zeigt, daß auch die Kombination von Hydrolyse und Mikrosublimation der Mikrochemie gute Dienste leisten kann.

Verdünnte Salpetersäure färbt arbutinhaltige Zellen sofort dunkelorange bis dunkelrotbraun. Die Farbe verwandelt sich alsbald in leuchtend Gelb bis Chromgelb (Tunmann V).

Senfölglykoside.

In den Samen und vegetativen Organen zahlreicher Cruciferen und ihrer nächsten Verwandten, der Resedaceen, Capparideen, Tropaeolaceen und anderer wurden Glykoside gefunden, die durch Spaltung oft stark riechende, die Schleimhäute reizende, schwefelhaltige Stoffe, die Senföle, liefern. Die Muttersubstanzen dieser Öle können als Senfölglykoside oder Glykosenöle bezeichnet werden. Hierher gehören: das Sinigrin, Sinalbin, Glykotropäolin, Glykonasturtiin und andere.

Sinigrin, $C_{10}H_{16}NS_2KO_9 + H_2O$,

oder myronsaures Kali ist das Glykosid des schwarzen Senfsamens Brassica nigra. In kleiner Menge kommt es auch in den Samen von Brassica Napus, Br. Rapa, Sinapis juncea und in der Wurzel von Cochlearia Armoracia vor. Hingegen fehlt es in den Samen des weißen Senfes Sinapis alba.

Eigenschaften. Sinigrin kristallisiert aus Wasser in kurzen rhombischen Prismen, aus Alkohol in glänzend weißen derben Nadeln. Ist in Wasser leicht löslich, schwer in kaltem, leichter in heißem Alkohol, unlöslich in Äther, Chloroform und Benzol. Durch das bei den Cruciferen so häufig vorkommende Ferment Myrosin wird es in Allylsenföl, d-Glukose und Kaliumbisulfat gespalten:

$$C_{10}H_{16}NS_2KO_9 + H_2O = C_3H_5NCS + C_6H_{12}O_6 + KHSO_4.$$

In der Mehrzahl der Cruciferen finden sich nach Heinricher (I) besondere Zellen oder Idioblasten, die er, da sich ihr Inhalt mit Millons Reagens rot färbte und auch sonst Eigenschaften der Eiweißkörper zeigte, als Eiweißschläuche bezeichnete. Später hat Guignard (I) diese Zellen genauer studiert und ihre wahre Natur als Myrosinbehälter erkannt. Diese Idioblasten sind also der Sitz des das Sinigrin spaltenden Fermentes.

Den mikrochemischen Nachweis des Sinigrins bzw. seines Spaltungsproduktes, des Senföls, versucht Guignard (I) in folgender Weise. Frische Schnitte durch die Rettichwurzel werden in absoluten Alkohol eingelegt. Der Alkohol entzieht das Fett (?) und macht das vorhandene Ferment fast ganz unwirksam. Nun legt man die Schnitte in eine Myrosinlösung, d. h. in einen wässerigen Auszug aus den Samen des weißen Senfes (Sinapis alba). Hier wird das Sinigrin gespalten. Senföl entsteht, und dieses läßt sich mittels einer schwach alkoholischen Alkannalösung rot färben. Man sieht dann in allen Zellen des Rinden-, Bast- und Holzparenchyms, besonders aber in dem der Rinde überall die nun rotgefärbten Tröpfchen des Senföls, aus dessen Anwesenheit Guignard auf die Muttersubstanz, auf das Sinigrin zurückschließt. Das Myronat dürfte daher im Parenchym diffus verteilt sein.

Äskulin, $C_{15}H_{16}O_9 + 2\ H_2O$.

Wurde bis jetzt nur nachgewiesen in Aesculus Hippocastanum (Rinde) und in Himenodictum excelsum Wallach (Rinde). In den Knollen der Jalape, Exogonium purga, kommt es als β-Methyläskulin, wahrscheinlich in den Sekretzellen vor.

Eigenschaften. Kristallisiert aus Wasser und verdünntem Alkohol in kleinen, oft kugelig gruppierten Prismen. Es ist kaum löslich in absolutem Äther, leicht in Eisessig, heißem Alkohol und langsam in Wasser. Die wässerige Lösung zeigt eine schöne blaue Fluoreszenz, die noch bei einer Verdünnung von $\frac{1}{15 \cdot 10^6}$ zu beobachten ist. Säuren heben die Fluoreszenz auf, Alkalien verstärken sie. Durch Erhitzen mit verdünnten Mineralsäuren wird Äskulin gespalten in Äskuletin und Glykose:

$$\underset{\text{Äskulin}}{C_{15}H_{16}O_9} + H_2O = \underset{\text{Äskuletin}}{C_9H_6O_4} + \underset{\text{Glukose.}}{C_6H_{12}O_6}$$

Nachweis. Tunmann (I) hat den Versuch gemacht, das Äskulin nachzuweisen, und zwar durch

Sublimation. Die Wurzelrinde von Aesculus Hippocastanum gab keine kristallinischen Sublimate. Nur wenn 0,3 g Rindenpulver aus der Frühjahrsrinde auf einmal der Sublimation unterworfen wurden, konnte er im Sublimat farblose Prismen gewinnen. Tunmann sagt selbst, daß der Ausfall der Sublimation unbefriedigend ist, und ich kann diese Bemerkung auf Grund eigener Erfahrungen bestätigen.

Hingegen will Tunmann mit der Droge von Gelsemium sempervirens Mich. (Rhizoma Gelsemii) vorzügliche Resultate erhalten haben. Schnitte sowohl des Holzes als auch der Rinde von nur wenigen Zentigrammen liefern schon mehrere starke Sublimate, die fast nur aus Kristallen bestehen. Die Sublimation soll nach Tunmann schon bei

etwa 40° beginnen und bei 58 bis 60° in ausgiebiger Weise verlaufen. Höhere Temperaturen sind zu vermeiden, weil die Sublimate dann gelb und verunreinigt sind. Die Kristalle stellen farblose Prismen, Säulen und Stäbchen mit rechtwinklig abgestutzten Endflächen dar; bei höherer Temperatur gewonnene Sublimate enthalten auch Büschel und Garben. Sie zeigen nach TUNMANN angeblich die Eigenschaften des Äskulins, und ihre wässerige Lösung gibt eine blaugrüne Fluoreszenz zu erkennen, wenn man abwechselnd über einer weißen und schwarzen Unterlage im direkten Sonnenlichte beobachtet.

TUTIN (I) hat sich gegen die Ergebnisse von TUNMANN gewendet, indem er zeigt, daß es sich bei den Experimenten mit Gelsemium nicht um Äskulin, sondern um Scopoletin (Methyläskuletin) handelt. In der chemischen Literatur wird angegeben, daß das Äskulin sein Kristallwasser bei etwa 130° verliert, bei 160° schmilzt und bei 230° in Äskuletin und Dextrose zerfällt. Nach TUNMANN aber soll Äskulin bei der Mikrosublimation schon bei 49 bis 50° schmelzen und schon bei 40° bzw. bei 58 bis 60° sublimieren. TUTIN findet es schwer begreiflich, daß ein Körper sich bei der Mikrosublimation anders verhalten soll als bei gewöhnlicher Behandlung, und überdies habe TUNMANN übersehen, daß Gelsemium gar kein Äskulin enthalte. Das blau fluoreszierende Prinzip in Gelsemium ist Skopoletin und nicht Äskulin, denn die Angabe, daß Gelsemium dieses Glykosid führt, ist bereits widerlegt.

Gelsemium liefert nach TUTIN ein geringes Sublimat, das großenteils aus Kristallen von Skopoletin besteht. Hingegen erhielt er bei der Sublimation von Äskulin eine teerige Masse ohne Kristalle oder mit Kristallen von Äskuletin.

Nach dieser Sachlage muß man wohl sagen, daß der Nachweis des Äskulins durch Mikrosublimation aus den Geweben der Pflanze bisher nicht gelungen ist, und mit Rücksicht auf die Arbeit von TUTIN wird es verständlich, warum man mit der Roßkastanienrinde, die doch relativ viel Äskulin führt, kein Äskulinsublimat erhält.

Auf nassem Wege läßt sich Äskulin nach TUNMANN (VI) mit einer Bromkaliumlösung, in der 10% Brom gelöst wurden, nachweisen. Werden Schnitte mehrere Stunden unter dem Deckglas darin belassen, so entstehen die farblosen Nädelchen des Dibromäskulins. —

Zum mikrochemischen Nachweis des Äskulins kann auch seine blaue Fluoreszenz mit Vorteil herangezogen werden, da die Fluoreszenz schon durch Einlegen kleiner Schnitte in einen Wassertropfen im direkten Sonnenlichte (vgl. p. 32) zutage tritt, zumal wenn man den Tropfen einen Moment über den Hals einer Ammoniakflasche hält, um die Fluoreszenz zu steigern. Die Fluoreszenz allein beweist natürlich noch nichts, da ja auch andere mit Äskulin verwandte Körper (Skopoletin, Äskuletin und Fraxin) dieselbe oder eine ähnliche Fluoreszenz zeigen.

Mit dem Nachweis des Äskulins in Roßkastanienkeimlingen auf Grund der Fluoreszenz hat sich WEEVERS (1, 247) beschäftigt. In ungekeimten Samen ist es sporadisch in der Plumula vorhanden. Läßt man die Keimpflanze sich bis zu einem vierblättrigen Stadium entwickeln, so ist die Lokalisierung dieses Glykosids folgende:

	Normale Keimpflanzen	Etiolierte Keimpflanzen
Kotylen	—	—
Kotylstiele	+	+
Stengelrinde	+	+
Blattstiele	+	—
Blätter	—	—
Hypokotyles Internodium	+	+
Wurzel	—	—

+ bedeutet: Äskulin anwesend, — bedeutet kein Äskulin.

Zum Nachweis wurden die Teile mit Wasser extrahiert, der Extrakt mit Bleiacetat und Natriumphosphat zur Entfärbung und Klärung versetzt. Es konnte dann die Fluoreszenz auch bei Spuren beobachtet werden. Das Licht ist für die Entstehung des Äskulins, wie die Tabelle lehrt, unnötig (Weevers I, 248).

Coriamyrtin, $C_{15}H_{18}O_5$ (?),

ist ein in den Blättern, Trieben und Früchten von Coriaria myrtifolia L. vorkommendes giftiges Glykosid. Es kristallisiert in farblosen, monoklinen Prismen, löst sich leicht in heißem Alkohol und Äther, schwer in kaltem Wasser und kaltem Alkohol. Beim Kochen mit verdünnter Salzsäure wird es gespalten. Dabei entstehen Zucker und wenigstens zwei andere Zersetzungsprodukte, von denen das eine in gelben Flocken ausfällt.

Nachweis. Hanausek (II) gelang es, mit der Jodwasserstoffnatronprobe das Coriamyrtin mikrochemisch nachzuweisen. Man legt zu diesem Zwecke ein Blattpartikel oder einen Querschnitt in eine ältere, Jodwasserstoffsäure enthaltende Jodjodkaliumlösung ein. Darauf entsteht in den Zellen ein schwarzer Niederschlag, und das Objekt wird hierdurch ganz schwarz. Saugt man dann die Jodlösung ab und läßt gleichzeitig starken Alkohol zufließen, so erfolgt eine Aufhellung des Präparates, der Niederschlag löst sich auf und das Objekt wird wieder grün. Wird nun Natronlauge hinzugesetzt, so tritt augenblicklich eine purpurviolette Färbung auf, aus dem Objekte scheiden sich tiefrote Körnchen ab, und nach 10 bis 15 Minuten, rascher nach Hinzufügen von Wasser, verschwindet die auffallende Färbung, und gleichzeitig bleibt ein gelber Niederschlag zurück. Mit Hilfe dieser Reaktion zeigte Hanausek, daß das Coriamyrtin in allen Teilen des Mesophylls vorhanden ist, aber nicht in den Gefäßbündeln.

Salicin, $C_{13}H_{18}O_7$,

kommt hauptsächlich in der Rinde zahlreicher Salix- und Populusarten vor, so in Salix Helix L., S. alba L., S. fragilis L., S. amygdalina, S. purpurea L., Populus tremula, P. balsamifera und anderen, hingegen scheint es nicht in S. babylonica, S. caprea L., S. viminalis L., Populus nigra L. und P. monilifera aufzutreten. Salicin findet sich aber nicht bloß in der Rinde, sondern auch in den Blättern, den weiblichen Blüten der erwähnten Weiden und in den Knospen von Populus nigra L.,

P. pyramidalis und P. monilifera Ait. Die Blütenknospen von Spiraea ulmaria L. führen diesen Stoff gleichfalls (Van Rijn I, 144).

Eigenschaften. Salicin kristallisiert in weißen, glänzenden Nadeln, Blättchen oder rhombischen Prismen von stark bitterem Geschmack. Leicht löslich in heißem Wasser, weniger in Alkohol, unlöslich in Äther. Konzentrierte Schwefelsäure löst Salicin mit intensiv roter Farbe. Aus dieser Lösung scheidet sich mit Wasser ein roter Niederschlag ab, der in Wasser, aber nicht in verdünnter Schwefelsäure löslich ist.

Mikrochemischer Nachweis. Von mehreren Seiten wurde der Versuch gemacht, die Rotfärbung mit Schwefelsäure heranzuziehen, um das Salicin in der Zelle nachzuweisen. Nach Raczinski (I) werden die Wände der Markstrahl-, Bast- und Holzzellen mit konzentrierter Schwefelsäure rot, und daraus schloß er auf Salicin. Dem wurde von Boguslawsky (I), da er die Rotfärbung nicht erhielt, widersprochen, und um diesen Widerspruch zu lösen, wiederholte Babikoff (I) die Versuche. Mit konzentrierter Schwefelsäure erhielt er keine Rotfärbung in den Geweben, wohl aber erhielt er mit verdünnter Schwefelsäure dieselben Resultate wie Raczinski. Da Babikoff mit verdünnter Schwefelsäure und reinem Salicin keine Rotfärbung bekam, so schloß er, daß in den genannten Geweben der Weiden kein Salicin, sondern ein anderer Körper die Rotfärbung hervorruft, und dies erschien ihm um so sicherer, als dieselbe Färbung auch auftrat in Pflanzen, die sicher kein Salicin enthielten. Die Rotfärbung, die mit verdünnter Schwefelsäure in Schnitten der Weidenzweige zutage tritt, erscheint auch nach Behandlung mit Salzsäure und wird meiner Meinung nach durch die Holzstoffreaktion, die durch das im Gewebe vorkommende Phloroglucin bedingt wird, hervorgerufen (vgl. p. 147).

Auch Theorin (I) und Rosoll (I) glaubten die Reaktion mit Schwefelsäure zum mikrochemischen Nachweis des Salicins empfehlen zu können, allein die Bedenken, die Weevers (I, 232) gegen die Methodik Theorins geltend machte, sind vollauf berechtigt. Es ist somit derzeit nicht möglich, Salicin mikrochemisch direkt im Gewebe nachzuweisen, und dasselbe gilt auch von Populin, welches mit konzentrierter Schwefelsäure eine ähnliche Reaktion gibt wie Salicin.

Coniferin, $C_{16}H_{22}O_8 + H_2O$,

ein im Kambialsaft verschiedener Coniferen (Abies excelsa, A. pectinata, Pinus Strobus, Larix europaea usw.) vorkommendes Glykosid.

Eigenschaften. Weiße atlasglänzende Nadeln. Schwer löslich in kaltem Wasser, leicht in heißem, wenig in starkem Alkohol, unlöslich in Äther. In konzentrierter Schwefelsäure mit dunkelvioletter, allmählich in Rot übergehender Farbe löslich. Mit Phenol und konzentrierter Salzsäure benetzt, gibt Coniferin im Sonnenlicht eine intensiv blaue Farbe.

Nachweis.

Es ist auffallend, daß der mikrochemische Nachweis des Coniferins im Kambium der Coniferen bisher noch nicht geglückt ist. Hingegen wurde durch Höhnel (I), Singer (I, 352) die allgemeine Verbreitung dieses Glykosids in den verholzten Geweben der Pflanze mittels der

Phenolsalzsäurereaktion sehr wahrscheinlich gemacht. Dieselben Dienste leistet für den Coniferinnachweis das von Molisch (II, 301) aufgefundene Thymolreagens. Eine 20proz. Thymollösung in absolutem Alkohol wird so lange mit Wasser verdünnt, als die Flüssigkeit vollkommen klar bleibt, d. h. kein Thymol herausfällt. Hierauf wird festes Kaliumchlorat im Überschuß hinzugesetzt, mehrere Stunden stehen gelassen und filtriert. Wird mit diesem Reagens Holzstoffpapier oder ein verholztes Gewebe benetzt und hierauf ein Tröpfchen konzentrierte Salzsäure hinzugesetzt, so färbt sich die benetzte Stelle selbst in tiefster Finsternis alsbald schön blaugrün. Jede verholzte Zellhaut und nur diese färben sich mit diesem Reagens in der angegebenen Weise, und hierin liegt eine Stütze der schon von Höhnel, Singer und in neuester Zeit auch von Grafe vertretenen Ansicht, wonach das Coniferin als ein konstanter Bestandteil des Lignins zu betrachten sei.

Die Phenolsalzsäure-Reaktion wird gleichfalls durch einen Zusatz von Kaliumchlorat empfindlicher gemacht. Ich verwende eine gesättigte wässerige Phenollösung und versetze mit so viel Kaliumchlorat als sich darin auflöst. Das Thymolreagens ist vorzuziehen, da die Färbungen schöner und haltbarer sind.

Syringin, $C_{17}H_{24}O_9$.

Vorkommen.

Namentlich in der Rinde, aber auch in den Blättern von Syringa vulgaris, Ligustrum vulgare und anderen Ligustrum-Arten, ferner in Robinia Pseudacacia, Jasminum nudiflorum und J. fruticans.

Eigenschaften. Bildet lange, weiße, geschmacklose Nadeln. Leicht löslich in heißem Wasser und Alkohol, aber nicht in Äther. Die alkoholische oder wässerige Lösung wird beim Vermischen mit dem gleichen Volum Schwefelsäure dunkelblau und bei weiterem Zusatz von Schwefelsäure violett. Salpetersäure löst mit blutroter Farbe. Mit verdünnten Mineralsäuren wird Syringin in Syringenin und Glukose gespalten:

$$\underbrace{C_{17}H_{24}O_9}_{\text{Syringin}} + H_2O = \underbrace{C_{11}H_{14}O_4}_{\text{Syringenin}} + C_6H_{12}O_6.$$

Nachweis. Von diesen Eigenschaften hat Borčšow (I) die Reaktion mit Schwefelsäure benutzt, um das Syringin im Gewebe nachzuweisen. Er behandelt Schnitte der Zweige von Syringa vulgaris mit mäßig konzentrierter Schwefelsäure (1 Teil Schwefelsäure und 2 Teile Wasser). Es färben sich dann alsbald sämtliche Zellhäute der Holz-, Bast- und Markstrahlzellen gelbgrün, nach wenigen Minuten blau oder bläulich und später violettrot. Verwendet man eine verdünntere Säure (1 : 5), so tritt die Reaktion oft erst nach 2 bis 3 Stunden ein. Reine Schwefelsäure ist nicht zu empfehlen, da die Reaktion zwar rasch erscheint, das Gewebe aber zerstört wird. Das Syringin kommt nach Borčšow ausschließlich in den Zellhäuten vor, und zwar in den dickwandigen Elementen des Phloems, des Holzes und der Holzmarkstrahlen.

Ich habe diese von Borčšow gemachten Angaben nachgeprüft, bin aber dabei zu keinen befriedigenden Resultaten gekommen. Wenn ich die empfohlene verdünnte Schwefelsäure (1 : 2) verwendete, so trat

die Reaktion entweder gar nicht ein, oder es färbten sich fast nur die Bastzellen gelbgrün bis blaugrün. Wurde die Schwefelsäure in reiner oder konzentrierterer Form einwirken gelassen, so trat zunächst eine blaugrüne Färbung des chlorophyllführenden Rindenparenchyms ein, diese Reaktion rührt aber, wenigstens großenteils, von dem Carotin der Chlorophyllkörner her. Die Bast-, Holz- und Markstrahlzellen werden unter hochgradiger Aufquellung fast sofort desorganisiert und nehmen einen braunroten Farbenton an. Außerdem kann namentlich im Kambium eine violette Färbung auftreten, die von Syringin herrühren, aber ebensogut als Raspailsche Reaktion des Plasmaeiweißes gedeutet werden kann. Ich möchte daher davor warnen, aus diesen Färbungen Schlüsse auf die Anwesenheit von Syringin zu ziehen, wie es Borčšow getan hat. Dasselbe gilt auch von den Angaben Schells (I). Der Syringingehalt ist zu verschiedenen Zeiten nicht gleich. Obwohl ich die Syringarinde im Frühjahr und im Herbste prüfte, konnte ich im Ausfall der mikroskopischen Färbungen keinen wesentlichen Unterschied finden.

Nicht unerwähnt bleibe, daß die Bastzellmembranen von Syringa mit konzentrierter Salzsäure eine intensiv grüne Farbe annehmen und daß die Rinde der Syringa vulgaris und Ligustrum vulgare bei der Sublimation farblose oder bräunliche Tröpfchen liefert, die mit konzentrierter Schwefelsäure eine rotviolette Färbung zeigen.

Baptisin, $C_{26}H_{32}O_4 + 9H_2O$,

ist ein in der Wurzel der Papilionacee Baptisia tinctoria vorkommendes Glykosid. Es läßt sich nach Tunmann (VIII) mikrochemisch nachweisen 1. durch Farbenreaktionen, 2. durch Abscheidung von Baptisinkristallen aus Schnitten am Deckglasrand und 3. durch Mikrosublimation.

ad 1: Baptisin gibt mit Cer- und Wolfram-Schwefelsäure eine rotviolette Färbung.

ad 2: Kocht man mehrere Schnitte unter Deckglas in Essigsäure, so scheiden sich nach dem Eindunsten der Flüssigkeit hellgelbe Sphärite des Baptisins aus.

ad 3: Das Wurzelpulver liefert bei der Sublimation zuerst nur farblose oder schwach gelbliche, stark polarisierende, aus Nadeln bestehende Drusen von Baptisin. Später erscheinen die Zerrformen der Zersetzungsprodukte.

Amygdalin und verwandte, Blausäure liefernde Glykoside.

Verbreitung. In den Samen der bitteren Mandeln, Amygdalus communis, in denen von verschiedenen Prunus-Arten, Persica vulgaris, Pirus malus, Cydonia vulgaris, Sorbus aucuparia, Cotoneaster vulgaris, Crataegus oxyacantha und Mespilus japonica wurde kristallisierbares Amygdalin gefunden. Es wird durch ein in den Amygdalinpflanzen gleichfalls häufig vorkommendes Ferment, das Emulsin, oder durch heiße verdünnte Säuren in Zucker, Benzaldehyd und Blausäure nach der Gleichung gespalten:

$$\underbrace{C_{20}H_{27}NO_{11}}_{\text{Amygdalin}} + 2H_2O = \underbrace{2C_6H_{12}O_6}_{\text{Zucker}} + \underbrace{C_7H_6O}_{\text{Benzaldehyd}} + \underbrace{CNH}_{\text{Blausäure}}.$$

In den Blättern von Prunus Laurocerasus L. und in der Rinde von Prunus Padus kommt ein amorphes Amygdalin, Laurocerasin genannt, vor, das durch Emulsin dieselbe Spaltung erleidet.

In letzter Zeit haben die Untersuchungen verschiedener Forscher eine ganze Reihe von Blausäure abspaltenden Glykosiden kennen gelehrt, die in den verschiedensten Abteilungen des Pflanzenreiches auftreten. So das Prulaurasin in den Blättern von Prunus Laurocerasus und in den Zweigen von Cotoneaster microphylla, das Sambunigrin in den Blättern von Sambucus nigra und in Ribes rubrum, das Dhurrin in jungen Pflanzen von Sorghum vulgare und Panicum-Arten, das Linamarin in den Samen der gefärbten Bohnen, der wilden Pflanzen von Phaseolus lunatus, in Linum usitatissimum, Manihot Aipi und M. utilissima, in der Komposite Dimorphotheca und vermutlich auch in Thalictrum aquilegifolium. Damit ist nur ein kleiner Bruchteil Blausäure liefernder Pflanzen erwähnt, konnte doch schon 1919 Greshoff (I) 84 phanerogame Gattungen namhaft machen, die Blausäure enthalten. In 16 Gattungen wird die Cyanwasserstoffsäure von Azeton begleitet und in 43 von Benzaldehyd. In den übrigen Fällen sind die begleitenden Substanzen unbekannt.

Im Jahre 1919 konnte Rosenthaler (I) bereits eine Liste von rund 360 Arten von Blausäurepflanzen mit 148 Gattungen und 41 Familien verzeichnen. Die größte Zahl dieser Pflanzen findet sich bei den Rosaceen mit über 80; ihnen gesellen sich zu die Gramineen mit über 40, die Araceen mit 31, die Passifloreen mit 26, die Leguminosen mit 21 und die Ranunculaceen, Euphorbiaceen und Flacourtiaceen mit je 12 blausäurehaltigen Arten.

Kürzlich hat Brunswik (II) mit Hilfe neuer Reaktionen 41 neue Blausäurepflanzen gefunden: 12 Ribes-Arten, 5 Crataegus-Arten, 14 Araceen und 10 Arten aus verschiedenen Pflanzenfamilien.

Das Amygdalin und die verwandten Glykoside direkt im Gewebe nachzuweisen, ist bisher nicht gelungen, wohl aber vermag man ihr Spaltungsprodukt, die Cyanwasserstoffsäure, durch bestimmte Reaktionen zu erkennen. Diese Reaktionen sind die beiden folgenden:

Mikrochemischer Nachweis.

1. Die Berlinerblauprobe. Treub (I, II) hat das Verdienst, diese Probe zuerst für den Nachweis der Blausäure in den Geweben der Pflanze herangezogen und adaptiert zu haben.

Zur Durchführung der Reaktion kommen nacheinander folgende drei Lösungen zur Anwendung:

α) Die Kalilauge. Man fügt zu 20 Volumteilen einer 20proz. wässerigen Kaliumhydroxydlösung 80 Volumteile etwa 90proz. Alkohols. Die Lösung darf nur kalt angewendet, und die zu untersuchenden Objekte (Schnitte, Blattfragmente usw.) dürfen nur einen Augenblick in die Lösung getaucht werden.

β) Die Eisenlösung. Eine 2,5proz. wässerige Ferrosulfatlösung mit einer 20proz. wässerigen Ferrichloridlösung wird zu gleichen Teilen vor dem Gebrauch gemischt und auf Siedetemperatur erhitzt. Man läßt die Objekte 5 bis 15 Minuten in der Lösung und erneuert diese nach jedesmaligem Gebrauch.

γ) Salzsäure. Schließlich taucht man die Objekte genau 5 Minuten in eine 20proz. wässerige Salzsäurelösung.

Bei Anwesenheit von Blausäure färben sich die Objekte infolge der Ausscheidung von Berlinerblau blau, und aus der Intensität der Färbung kann man annähernd auch einen Schluß auf die Menge der vorhandenen Blausäure ziehen.

Zur Durchführung der Probe empfiehlt Treub dickere Schnitte zu nehmen, weil sich sonst die Cyanwasserstoffsäure sehr rasch verflüchtigt und die Reaktion unterbleibt. Treub (I, 10) hat auch in sehr anschaulicher Weise gezeigt, wie man nach Art der Sachsschen Stärke-Jodprobe die Verteilung der Blausäure in einem ganzen Organe veranschaulichen kann. Wenn man z. B. den Blausäurenachweis für ein Blatt erbringen will, so klopft man das Blatt mit einer starren Haarbürste möglichst rasch und gleichmäßig und taucht es dann nacheinander in die drei Lösungen α, β und γ, unter genauer Einhaltung der angegebenen Zeiten. Die Lösungen dringen in die durch das Klopfen geschaffenen Wunden leicht ein und bewerkstelligen hier leicht die Überführung der Cyanwasserstoffsäure in Berlinerblau, das sich an den Wundrändern durch die blaue Farbe leicht zu erkennen gibt. Obwohl der Blausäuregehalt nur in der Wunde angezeigt wird, erhält man doch ein sehr anschauliches Bild über die Verteilung der Cyanwasserstoffsäure im Blatte. Die nebenstehende Fig. 65 zeigt den Effekt der Reaktion bei einem Blatte von Phaseolus lunatus L. Der Teil *a* wurde um 6 Uhr morgens, der Teil *b* abends geprüft. Es ist deutlich zu sehen, wie sehr der Blausäuregehalt vom Morgen gegen Abend wächst.

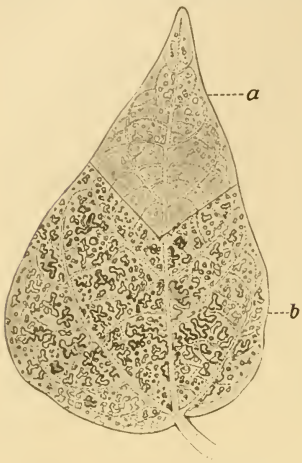


Fig. 65.
Nachweis der Blausäure im Blatte von Phaseolus lunatus L. Die dunkeln Punkte sind in Wirklichkeit blau, *a* wurde morgens und *b* abends geprüft. Es ist zu sehen, wie der Blausäuregehalt gegen Abend zunimmt. (Nach Treub.)

Solche Versuche lehren, daß die Menge der Blausäure während der Belichtung zunimmt und während der Verdunklung abnimmt. Die Methode Treubs liefert sehr gute Resultate. Bei manchen Pflanzen, die weniger Blausäure enthalten, z. B. bei Prunus Laurocerasus, gelingt die Bürstenreaktion, wie Peche (I) hervorhebt, ebenfalls ganz gut, aber bei

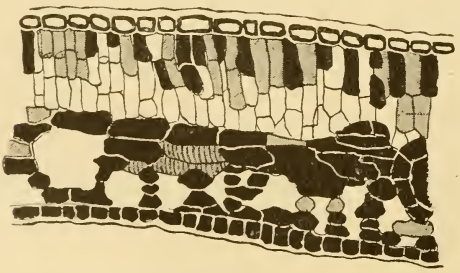


Fig. 66.
Schema der Blausäurelokalisation im Blattquerschnitte von Prunus Laurocerasus L. *BZ* Blausäure-, *GZ* Gerbstoffzellen. (Nach Peche.)

Schnitten nur dann, wenn man die Blätter rasch in kleine Stücke zerschneidet, sofort in der angegebenen Weise behandelt, auswäscht, in Alkohol härtet und dann erst Schnitte herstellt. Prunus Laurocerasus enthält oft so geringe Blausäuremengen, daß man häufig nur eine ganz schwache Grünfärbung erhält, und da sich überdies das Berlinerblau in der Lauge löst, so färben sich sowohl der Zellinhalt als auch die Membranen blau, was jedenfalls von Nachteil ist. Um diesem zu begegnen, führte Peche (I) folgende Reaktion in die Mikrochemie ein:

2. Die bekannte Reduktion des Merkuronitrats (3%) durch Cyanwasserstoff zu metallischem Quecksilber unter Ausscheidung von weißem wasserlöslichen Merkuricyanid:

$$Hg_2(NO_3)_2 + 2\,KCN = 2\,KNO_3 + Hg(CN)_2 + Hg$$

gibt ein Mittel an die Hand, die Blausäure lokal nachzuweisen. Da das Quecksilbersalz kalt angewendet wird und sehr rasch unter gleichzeitiger Fixierung in die Gewebe eindringt, findet die Blausäure nicht Zeit zu entweichen und wird am Orte ihres Freiwerdens durch das ausfallende, metallisch schwarze Quecksilber angezeigt (Fig. 66). Bei dieser Reaktion handelt es sich um eine Reduktion, und es ist natürlich, daran zu denken, ob diese nicht auch durch andere im Gewebe vorhandene reduzierende Körper bewerkstelligt wird. Peche hat diesen Gedanken geprüft und zum Vergleiche namentlich die Carbonyl-, die phenolische Hydroxyl- und die Aminogruppe berücksichtigt. Die Carbonylgruppe reduziert Merkuronitrat nur in der Wärme, phenolisches Hydroxyl nur unter Bildung gelbbrauner Niederschläge und Quecksilber wird erst nach längerer Einwirkung ausgeschieden. Aminosäuren reduzieren kalt erst nach längerer Einwirkung. Ist Blausäure zugegen, so wird nach Peche (I, 37) das metallische Quecksilber binnen wenigen Sekunden ausgefällt. So färbt sich das mit Wasser mazerierte Gereibsel einer bitteren Mandel mit Merkuronitrat sofort braunschwarz, das einer süßen aber nach längerer Zeit kaum lichtgrau

Um aber jeder Täuschung vorzubeugen, ist dringend zu empfehlen, zum Vergleiche stets auch die Berlinerblauprobe heranzuziehen und nur dann, wenn die beiden Reaktionen korrespondieren, die Blausäure für die Reaktion des Quecksilbernitrats verantwortlich zu machen.

Peche verwendet eine 3proz. Lösung des Quecksilbersalzes ohne Erwärmen. Mit der Bürste geklopfte Blätter von Prunus Laurocerasus geben mit Merkuronitrat schwarze Wundpunkte, entsprechend der Vergleichsmethode von Treub. Die besten Resultate erhielt Peche mit Schnitten. Mit Rücksicht auf die außerordentliche Flüchtigkeit der CNH muß man sich mit der Herstellung der Schnitte und der Durchführung der Reaktion sehr beeilen.

Treub konnte die Lokalisation der Blausäure bei Pangium edule Reinw. in der Epidermis, dem Periderm und dem Baste des Stammes feststellen, ebenso in bestimmten Zellen des Markes und der Rinde. In Übereinstimmung damit wurde von Peche in denselben Geweben und auch in den Holzmarkstrahlen mittels Merkuronitrat und der Berlinerblauprobe bei Prunus Laurocerasus die Cyanwasserstoffsäure konstatiert. In der Nähe von Wunden und Lenticellen war der Blausäuregehalt bei der genannten Prunusart vermehrt.

3. Reaktion mit Soda-Pikrinsäure-Papier. GUIGNARD (III). Ein Streifen Filtrierpapier wird in 1proz. wässerige Pikrinsäure getaucht, getrocknet, in 10proz. Sodalösung getaucht und, falls man es nicht gleich verwendet, abermals getrocknet. Ein so vorbereitetes Papier hat eine goldgelbe Farbe und ist gut haltbar. Wird ein so vorbereitetes Papier in ein Proberöhrchen, das etwa 1—2 cm^3 einer blausäurehaltigen Flüssigkeit enthält, gehängt und mit dem Stöpsel befestigt, so färbt sich das Papier rotorange, je nach der vorhandenen Menge der Blausäure und der Temperatur verschieden rasch und stark. Bei einem Gehalt von 0,00005 g HCN nach etwa 12, bei einem von 0,00002 g nach 24 Stunden.

Soll die Reaktion mit der Pflanze, z. B. mit der Bohne von Phaseolus lunatus ausgeführt werden, so bringt man einige Gramm pulverisierten Samen in ein kleines Kölbchen, befeuchtet mit Wasser bis zur Breikonsistenz und befestigt mit dem Stöpsel das Papier. Die Rotfärbung zeigt sich nach etwa 12 Stunden.

Die Reaktion ist noch nicht ganz aufgeklärt. Die Rotfärbung soll auf der Bildung von Isopurpursäure ($C_8H_4N_5O_6K$), nach anderer Ansicht auf der von Aminonitrophenolen beruhen. —

4. Reaktion mit Silbernitrat und Benzidin-Kupferacetat. Wir verdanken BRUNSWIK (II) eine vortreffliche Arbeit, in der zwei neue mikrochemische Verfahren (a u. b) zum qualitativen Nachweis von CNH in Pflanzenteilen bekannt gemacht werden: das eine mit 1% Silbernitrat und das andere mit Benzidin-Kupferacetat. Beide werden unter Benützung des niederen Siedepunktes von CNH (26° C) in der Gaskammer mit den Reagentien im hängenden Tropfen bei Zimmertemperatur ausgeführt. Um die Blausäure frei zu machen, wird der zu untersuchende Pflanzenteil in der Gaskammer 10 Stunden der Fermentation unterworfen und die Tötung der Zellen durch Zusatz von etwas Chloroform beschleunigt.

a) Bei der Probe mit 1% Silbernitrat entsteht bei der geschilderten Reaktionsanordnung kristallisiertes Silberzyanid in Form von Nadeln, Ranken und Drusen, die sich eindeutig von Silberchlorid und Silberrhodanid mehrfach unterscheiden lassen, am einfachsten durch Umkristallisieren des Silberzyanids mit fast kochender 50proz. HNO_3 unter Deckglas in feinen Nadeln und Nadelbüscheln.

Wie die Silberchloridkristalle erweisen sich auch die Zyansilber- (und Rhodansilber-)Kristalle mit verschiedenen organischen Stoffen als „echt" färbbar. Um blau gefärbte AgCN-Kristalle zu erhalten, ist es daher zweckmäßig, dem $AgNO_3$ gleich Methylenblau im hängenden Tropfen beizufügen.

b) Das Benzidin-Kupferacetatreagens besteht aus 1 Teil 3proz. Cu-Acetat + 5 Teilen gesättigter Benzidinacetatlösung + 8 Teilen Wasser und gibt mit CNH eine blaue Benzidinoxydationsverbindung in Form von Nadeln oder Körnchen. Sie ist analog dem bekannten „Benzidinchromat" und „Benzidinferrizyanid".

Die Empfindlichkeit der Silbernitratreaktion ist 0,06 γ CNH in einem Tropfen. Sie ist also sehr groß. Eine noch größere Empfindlichkeit zeigt die Reaktion mit Benzidin-Kupferacetat (0,02 γ CNH); dazu kommt, daß die erst durch Fermentation entstehende CNH sich summieren kann.

Mit beiden Proben lassen sich wegen ihrer großen Empfindlichkeit in sehr geringen Mengen WIENER Leuchtgas und im Tabakrauch (sogar noch in einem

ausgeblasenen Zuge) Blausäure eindeutig nachweisen. Für die einwandfreie Ausführung dieser beiden Reaktionen ist daher die Reinheit der Luft unerläßlich.

Das Zutreffen der Reaktion durch Überführung in Berlinerblau besagt, daß die Blausäure in locker gebundener Form vorliegt, denn die Blausäure der Glykoside gibt die Berlinerblauprobe nicht. Die Verhältnisse der Bindung liegen bei verschiedenen Pflanzen wahrscheinlich verschieden. Nach Treub und Jong (I) findet sich in den Blättern von Pangium Blausäure in freiem oder in schwach gebundenem Zustande oder in beiden Formen, bei Phaseolus lunatus L. großenteils als Glykosid und bei Prunus Laurocerasus nach Peche nicht nur in glykosidischer, sondern auch in sehr labiler Bindung.

Es wird demnach in der botanischen Literatur mehrfach angenommen, daß neben der festen glykosidischen noch eine „labile" oder „lockere" Bindung der Blausäure besteht. Brunswik (II) hält die lockere Bindung für unwahrscheinlich und ist geneigt, sie durch die Annahme einer in der lebenden Zelle noch auseinander gehaltenen räumlichen Koexistenz von Blausäureglykosid und stark wirksamen Enzym (Emulsin) zu erklären.

Bekanntlich hat Treub in einer Reihe ausgezeichneter Arbeiten den Gedanken experimentell zu begründen versucht, daß die Blausäure das erste erkennbare Produkt der Stickstoffassimilation und vielleicht sogar die erste Stickstoffverbindung überhaupt darstellt. Auch Guignard (I) konnte bei seinen Studien über das Pfropfen von Cyanwasserstoff liefernden Pflanzen mit Erfolg die Berlinerblauprobe verwerten. Gerade derartige Untersuchungen lassen den Wert mikrochemischer Methoden von neuem erkennen.

Saponin

bedeutet einen Kollektivbegriff für glykosidische N-freie Pflanzenstoffe, die im Pflanzenreiche, besonders in der Familie der Caryophyllaceae, sehr verbreitet sind und die sich durch folgende Eigenschaften auszeichnen: ihre wässerigen Lösungen schäumen stark beim Schütteln, sie verhindern das Absetzen feiner Niederschläge, lösen Blutkörperchen auf, im gepulverten Zustande erregen Saponine einen kratzenden Geschmack und Nießen. Es sind zahlreiche Saponine unter verschiedenen Namen beschrieben worden. Da sie aber gewöhnlich nicht kristallisieren, also sehr schwer rein zu erhalten sind, erscheinen die Analysenresultate und infolgedessen auch die Formeln unsicher. Kobert schreibt ihnen die allgemeine Formel zu $C_nH_{2n-8}O_{10}$.

Die meisten Saponine sind in Wasser löslich, in kaltem absoluten Alkohol und Äther unlöslich. Sie sind durchwegs Zuckerpaarlinge, die bei der Hydrolyse in Zucker und Sapogenin zerfallen. Konzentrierte Schwefelsäure färbt Saponin unter Wasserentzug anfangs gelb, dann rot und nach längerem Stehen (10—15 Minuten) violett.

Der mikrochemische Nachweis mit Schwefelsäure gelang Rosoll (II) bei Verwendung saponinreicher Pflanzenteile (Saponaria officinalis L. und Gypsophila Struthium L.). Die frische Seifenwurzel zeigt auf Schnitten in den meisten Parenchymzellen einen farblosen Zellsaft. Die trockene läßt, in Öl oder Glyzerin betrachtet, in den meisten Zellen der Mittelrinde, in den Markstrahl- und Holzparenchymzellen formlose, homogene, weißlich-graue Inhaltsklumpen erkennen, die

sich bei Zufuhr von Wasser lösen und durch absoluten Alkohol wieder in Form kleiner Klumpen abgeschieden werden. Diese Klumpen färben sich nach Zusatz von reiner Schwefelsäure gelb, dann rot und später violett, wobei sie sich langsam lösen. Da Eiweiß mit H_2SO_4 eine ähnliche Färbung (Raspails Reaktion) gibt, so wäre eine Täuschung möglich. Um dieser zu begegnen, kocht Rosoll die Schnitte längere Zeit in Wasser und prüft dann vergleichend intakte und saponinfreie Schnitte.

Bei eiweißreichen Objekten aber können doch Zweifel auftauchen, da die Raspailsche Reaktion sehr störend wirkt. Deshalb modifizierte Hanausek (I) die Methodik, indem er die Einwirkung der Schwefelsäure einzuengen und die Reaktion durch ein Niederschlag bildendes Mittel besser zu kennzeichnen suchte. Zu diesem Zwecke bediente er sich der von Lafon zum Digitalinnachweis benutzten Alkohol-Schwefelsäuremischung (1 : 1) mit nachträglichem Zusatz von Eisenchlorid. Die Mischung, kalt oder warm angewendet, ruft Gelb-, dann Rot- und zuletzt Violettfärbung hervor. Auf Zusatz von verdünnter Eisenchloridlösung entsteht ein bräunlicher oder bräunlich-blauer Niederschlag, dessen blauer Ton um so mehr hervortritt, je saponinreicher das Gewebe ist. Positiv fiel die Probe nach Hanausek aus bei Agrostemma Githago (Same), Dianthus Carthusianorum (Same), Sapindus Saponaria L. (Frucht), S. esculentus (Frucht), radix Saponariae rubrae, Sapindi, Senegae, der Wurzel von Polygala amara, P. major und der Quillaja-Rinde. In der Senega und den übrigen Polygalawurzeln finden sich die Saponinsubstanzen vorzugsweise in den subepidermalen Gewebeschichten, und zwar im Phellogen und dem Rindenparenchym der Mittelrinde. Im Samenkorn von Agrostemma Githago gibt nur der Embryo die Saponinreaktion, aber nicht das Endosperm.

Verbreitung.

Die Saponine sind ähnlich den Gerbstoffen ungemein verbreitet. Waage (I) gibt eine Zusammenstellung der bisher aufgefundenen Saponinpflanzen und konnte weit über 200 Arten namhaft machen. Nach Greshoff kommt Saponin in der Gruppe der Farne und in etwa 70 Familien der Mono- und Dikotylen vor. Und zwar in den Blättern, wo Saponin entstehen kann, in Rinden und Fruchtschalen, wo sie als Schutzstoffe wirken, und in Samen und Wurzeln, wo sie als Reservestoffe dienen sollen. Bei den meisten Pflanzen kennt man den Sitz des Saponins noch nicht, und es wäre daher erwünscht, wenn jemand das Vorkommen der Saponine in den Zellen und Geweben mikrochemisch bei den zahlreichen, darauf noch nicht studierten Gewächsen untersuchen würde.

Auffallend ist die Koinzidenz des Vorkommens von blausäurehaltigen Glykosiden und von Saponinen bei zahlreichen Pflanzen, so bei Araceen (Arum), Bixaceen (Gynocardia), Combretaceen (Combretum), Compositen (Dimorphoteca), Gramineen (Panicum), Magnoliaceen (Liriodendron), Papilionaceen (Oxytropis), Ranunculaceen (Clematis), Rosaceen (Spiraea), Saxifragaceen (Hydrangea), Sapindaceen und Sapotaceen.

Saponarin, $C_{21}H_{24}O_{12}$.

Vorkommen.

Bei einigen Phanerogamen findet sich gewöhnlich in der Epidermis der Laubblätter ein gelöster Stoff vor, der sich mit Jodjodkalium blau bis violett färbt und der deshalb früher als „lösliche oder formlose Stärke“ bezeichnet wurde. Aber

schon Dufour (I) hat dargetan, daß dieser von Sanio bei Gagea lutea entdeckte Körper mit Stärke nichts zu tun hat, und Barger (I, II), der diesen Stoff zuerst aus Saponaria officinalis isoliert hat, zeigte, daß es sich um ein Glykosid von der Formel $C_{21}H_{24}O_{12}$ handelt und nannte es Saponarin. Dufour untersuchte etwa 1300 Pflanzen und fand es nur bei etwa 20 Phanerogamen; Molisch (I) konstatierte es bei dem Lebermoos Madotheka platyphylla und Kozlowski (I) in dem Laubmoos Mnium cuspidatum. Einen Körper, der die Reaktionen des Saponarins gibt, führen folgende Pflanzen:

Caryophylleae: Saponaria officinalis L., Gypsophila perfoliata L., G. scorzonerifolia (?), G. repens L., G. paniculata L., G. elegans Bieb., Tunica Saxifraga Scop.

Cruciferae: Alliaria officinalis Andrz.

Papilionaceae: Orobus vernus.

Malvaceae: Hibiscus syriacus L.

Cucurbitaceae: Bryonia dioica Jacqu.

Compositae: Centaurea paniculata W.

Liliaceae: Gagea lutea Schultz, Ornithogalum umbellatum, O. nutans, O. lanceolatum, O. longebracteatum.

Gramineae: Bromus erectus Huds., Hordeum vulgare L., H. hexastichum L., H. distichum L., H. coeleste Vib., H. trifurcatum Schl, H. murinum L.

Hepaticae: Madotheka platyphylla.

Musci: Mnium cuspidatum.

Da Barger das Saponarin nur bei Saponaria officinalis studiert und als Glykosid erkannt hat, so bleibt es vorläufig fraglich, ob auch bei den anderen angeführten Pflanzen jener im Zellinhalt gelöste Körper, der sich mit Jodjodkaliumlösung violett färbt, Saponarin ist. Mit großer Wahrscheinlichkeit aber kann man wenigstens für die Fälle, wo auf mikrochemischem Wege die charakteristischen Kristalle der Jodverbindung des fraglichen Körpers erhalten worden sind, annehmen, daß es sich auch hier um Saponarin handeln dürfte.

Eigenschaften. Doppelbrechende Nädelchen von 4—7 μ. Kaum löslich in kaltem Wasser und kaltem Alkohol, schwer löslich in heißem Wasser und heißem Alkohol, löslich in Pyridin. Kohlensäure und kaustische Alkalien nehmen Saponarin leicht mit intensiv gelber Farbe auf. Mineralsäuren lösen es mit gelber Farbe, Schwefelsäure mit blauer Fluoreszenz. Durch Jodjodkaliumlösung wird die wässerige Lösung intensiv blau gefärbt. Diese Färbung verschwindet auf Zusatz von Alkohol, Äther, Chloroform und Wasser, desgleichen beim Erwärmen, kommt aber nach dem Erkalten wieder zurück. Durch verdünnte Säuren wird Saponarin in Zucker und Saponaretin gespalten

$$C_{21}H_{24}O_{12} + H_2O = C_{15}H_{14}O_7 + C_6H_{12}O_6.$$

Nachweis.

Von den erwähnten Eigenschaften läßt sich die Fähigkeit des Saponarins, mit Jod eine blaue Verbindung zu geben, gut verwerten. Bringt man z. B. ein Blatt von Madotheka platyphylla in einen Tropfen Jodjodkaliumlösung, so färbt sich der Zellinhalt tief blau oder violett. Dieselbe Färbung tritt auch bei Behandlung mit Jodwasser oder Joddampf ein. Jodalkohol zieht das Saponarin aus, ohne zu färben, nach dem Verdampfen des Alkohols aber färbt sich das ausgefallene Saponarin, besonders am Rande des Deckglases, nach und nach violett, und nicht selten findet man die Jodverbindung in schönen, zu sternartigen Aggregaten gruppierten Kristallnadeln oder in Form einer ungemein charakte-

ristischen, aus spinngewebeartigen oder fädigen Kristallen bestehenden Masse, die gleich einem zarten, violetten Filz oder Schleier den Objektträger bedeckt. Dasselbe erreicht man auch, wenn man Blätter mit Wasser unterm Deckglas zum Sieden erhitzt, das Wasser verdampfen läßt und dann Jodjodkaliumlösung hinzufügt. — Beim Erwärmen verliert die Jodverbindung des Saponarins ihre Farbe, gewinnt sie aber beim Abkühlen wieder. Die Jodverbindung läßt sich lange aufbewahren, ohne ihre Färbung an der Luft zu verändern. Beim Zusatz von Wasser färben sich die rotvioletten Kristalle blauviolett oder blau und lösen sich nach einiger Zeit auf (MOLISCH I, 488) (s. auch KLEIN II).

Unbekannte Körper, vielleicht glykosidischer Natur, im Safte der Schlauchzellen von Mimosa pudica.

Beim Anschneiden eines Blattes (Blattgelenks) oder Stengels tritt aus der Schnittfläche ein kleiner Tropfen hervor, der aus den das Leptom durchziehenden Schlauchzellen stammt. Diese Tropfen stellen unter anderem eine konzentrierte Lösung eines Körpers dar, der beim Verdunsten auskristallisiert und mit Eisenchlorid eine tiefrot-violette Färbung annimmt. HABERLANDT (I), der auf diesen Körper zuerst aufmerksam gemacht und seine Eigenschaften mikrochemisch untersucht hat, gelangt zu der Ansicht, daß es sich wahrscheinlich um ein Glykosid oder um eine glykosidartige Substanz handelt.

Die aus dem Safttropfen sich abscheidenden Kristalle sind verschieden geformt: farblose Kristallprismen mit schrägen Endflächen, drusige Aggregate von solchen, kreuzförmige Zwillinge, Rauten, federartige oder vierstrahlige Aggregate, Dendriten, Pinsel und Sphärite. Alle diese Kristalle geben nach HABERLANDT die erwähnte Färbung mit Eisenchlorid. Der Körper ist in Wasser leicht, in absolutem Alkohol schwer, in Äther ganz oder fast unlöslich; konzentrierte Schwefelsäure löst mit gelbgrüner Farbe, Eisenvitriol bewirkt eine intensiv rostrote Färbung. FEHLINGS-Lösung reduziert direkt nicht, wohl aber nach Behandlung mit verdünnter Schwefelsäure. Der fragliche Körper ist nach MOLISCH (IV) flüchtig. Setzt man die Rückstände des Mimosa-Tropfens bei nicht zu hoher Temperatur der Mikrosublimation aus, so erhält man, falls man das Sublimat sich knapp über den erwärmten Kristallen bilden läßt, Tröpfchen, die mit Eisenchlorid dieselbe rotviolette Färbung wie die Kristalle des Mimosa-Tropfens geben. Nach dem Gesagten haben wir es wahrscheinlich in dem Mimosa-Tropfen-Kristallbrei mit einem Körper der aromatischen Reihe, vielleicht mit einem Phenol zu tun. Hierfür sprechen die auffallende Violettfärbung mit Eisenchlorid, das Eintreten der MILLONschen Reaktion, die leichte Löslichkeit in Laugen und die Flüchtigkeit bei höherer Temperatur. Ich glaube nicht, daß die fragliche Substanz mit der Reizleitung in ursächlichem Zusammenhang steht, denn Mimosa Spegazzini, die bekanntlich dieselben Reizerscheinungen zeigt wie M. pudica, führt diesen Körper in den Schlauchzellen nicht. Nebenbei sei noch bemerkt, daß der Schlauchsaft von M. Spegazzini sich im Gegensatz zu M. pudica mit konzentrierter Schwefelsäure momentan intensiv blut- bis braunrot färbt.

Myriophyllin.

An der Basis, den Seiten und Spitzen der jungen Myriophyllum-Blätter sitzen chlorophyllose Haare, in deren Zellen sich große, stark lichtbrechende, ölartige Kugeln befinden. Diese schon öfter gesehenen, seinerzeit als Luft (!) gedeuteten Inhaltskörper wurden von RACIBORSKI (I) genauer untersucht. Äußerlich ähneln sie Gerbstoffvakuolen und haben auch dieselbe Entwicklungsgeschichte. Sie enthalten aber keinen Gerb-

stoff. Warme konzentrierte Eisenchloridlösung bräunt sie, Vanillinsalzsäure und Coniferinsalzsäure färbt purpurrot, durch Anilinsulfat und Kaliumnitrat werden sie gelb, dann rotbraun und durch Diphenylamin und Schwefelsäure nach gelindem Erwärmen zunächst gelb, dann rot und schließlich braun gefärbt.

In Alkohol, Glyzerin, Kalilauge, Chloralhydrat, Ammoniak und Eisessig lösen sie sich, in konzentrierten Mineralsäuren und Pikrinsäure sind sie unlöslich.

Einige dieser Reaktionen kommen auch dem Phloroglucin zu, doch ist nach Raciborski keine Substanz bekannt, die im mikrochemischen Verhalten dem Myriophyllin ganz entspricht. Er hält es für wahrscheinlich, daß das Myriophyllin einen glukosidartigen, leicht oxydierbaren Körper darstellt. Pröscher (I) konnte in der Tat zeigen, daß die rote Färbung, die das Myriophyllin mit Vanillinsalzsäure und vielen anderen Verbindungen gibt, auf einer Oxydation beruht, die durch Abspaltung stark oxydierbarer Hydroxylgruppen bewirkt wird. — Ebenso reagierende glukosidartige Körper kommen nach Raciborski auch vor in den Haaren der Blatt- und Antherenspitzen der Ceratophyllum-Arten, den Haaren der jungen Blätter der Elatine Alsinastrum, in Nymphaea- und Pontederia-Blättern, in den Wurzelhaaren der Azolla-Arten, auch sind hierher zu stellen die roten Bläschen in den Wurzeln des Desmanthus natans und die Gerbstoffzellen der Epidermis der Saxifraga-Arten (Sect. Cymbalaria). Weitere Untersuchungen müssen lehren, ob wir es hier mit derselben chemischen Verbindung oder mit nahe verwandten zu tun haben.

Jüngst hat sich Janson (I) neuerdings mit den Myriophyllum-Kugeln beschäftigt und kommt zu dem Schlusse, „daß die Kugeln wesentlich aus einem Eiweißstoff bestehen, mit geringen Beimengungen von gerbstoffartigen Stoffen“, ohne aber überzeugende Beweise zur Eiweißnatur zu bringen.

Anschließend seien noch das Plumbagin, das Spergulin und das Betulin erwähnt, drei derzeit zu den Bitterstoffen gestellte Körper. Das Plumbagin wurde aus der Wurzel von Plumbago europaea gewonnen und kommt vielleicht auch in anderen Plumbago-Arten vor. Es ist chemisch noch wenig erforscht und wurde von Herrmann (I, 32) mikrochemisch in der Wurzel nachgewiesen.

Das Spergulin ist von Harz (I, 489) in den Samenschalen von Spergula vulgaris v. Bönningh und Sp. maxima W. entdeckt worden. Es stellt ein dunkelbraunes Pulver dar und löst sich leicht in absolutem und wasserhaltigem Alkohol. Diese Lösung erscheint im durchfallenden Lichte farblos bis schwach grünlich oder olivenbraun, im auffallenden aber intensiv dunkelblau. Übergießt man Schnitte durch die Samenschale mit Alkohol und beobachtet man auf schwarzem Glase, so erscheint die schwarze Testa prachtvoll blau gefärbt.

Das Spergulin ist unlöslich in fetten Ölen, Terpentinöl, Benzin, Schwefelkohlenstoff, Chloroform, Säuren und Wasser. Es löst sich aber mit schön dunkelblauer Farbe in konzentrierter Schwefelsäure. Fügt man der alkoholischen Lösung Spuren von Ätzkali, Ätznatron oder Ammoniak zu, so verwandelt sich die ursprünglich dunkelbaue Fluoreszenz vorübergehend in eine prachtvoll smaragdgrüne.

Die Epidermiswände der Samenschale enthalten allein das Spergulin. Nur diese färben sich mit Schwefelsäure blau. Alle anderen Teile der Samenschale und des Samenkerns sind frei von Spergulin.

Das Betulin (Betulakampfer) $C_{36}H_{60}O_3$ (?) findet sich in dem weißen Kork der Betula alba.

Eigenschaften. Er bildet farblose lange Prismen und sublimiert äußerst leicht in langen, zarten Nadeln. Er ist unlöslich in Wasser, wenig löslich in Alkohol, Äther, Chloroform, Benzol, leichter bei Siedetemperatur der Lösungsmittel.

Mikrosublimation. Es gibt wenige Substanzen, die so ausgezeichnet sublimieren wie das Betulin. Tunmann (II) hat die Mikrosublimation zuerst durchgeführt und empfiehlt das Betulin geradezu als Übungsbeispiel für Sublimation. Man erhält es in quantitativer Ausbeute. Weiße Korkstücke von weniger als $^1/_{10}$ mg liefern bereits starke kristallinische Sublimate. Stücke von 0,1 g geben Effloreszenzen, die schon mit bloßem Auge als weißer, federartiger, verfilzter Belag zu erkennen sind. Es bilden sich feine Prismen, Nadeln, Spieße, die sich zu Sternen, Drusen, Dendriten oder einem Filz vereinigen. Oft sind die Nadeln und Spieße von Querbrüchen durchsetzt, was sehr charakteristisch ist. Betulinkristalle setzen sich auch in den Korkstückchen selbst ab. Die Kristalle lösen sich leicht in Anilin, schwerer in wässerigem Chloralhydrat, Eisessig und heißem Benzol. In Alkohol, Petroläther, Schwefelkohlenstoff, Chloroform und Äther lösen sie sich unter Deckglas selbst beim Aufkochen nur zum Teil. Bei Einwirkung von konzentrierter Schwefelsäure tritt Gelbfärbung unter Vakuolenbildung ein.

Das Betulin bildet in den Korkzellen amorphe, eingetrocknete Klumpen, die die Zellen bisweilen ganz erfüllen, oder kleinkörnige Massen.

Literatur

zu p. 180 bis 202.

Albertus, H., I. Beitr. z. Kenntnis des Vorkommens hesperidinartiger Körper bei der Familie der Labiatae. (Svensk farmaceutisk tidskrift 1919, 23. årg., p. 609—614.)

Albo, G., I. Sulla funzione fisiologica della Solanina. (Contrib. alla Biologia veget. 1899, Vol. II, p. 185—209, Palermo.)

Babikoff, J., I. Über das Vorkommen des Salicins in den Weiden. (Arb. d. St. Petersburger Ges. d. Naturforscher 1874, Bd. V, Heft 2, p. I—II; Ref.: Justs Jahrb. 1874, p. 825.)

Barger, G., I. Saponarin, ein neues, durch Jod blau gefärbtes Glykosid aus Saponaria. (Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 1902, Jg. 35, p. 1296.)

—, II. Saponarin, a new Glucoside coloured blue with Jodine. (Transactions of the Chemical Society 1906, Vol. LXXXIX, p. 1210.)

Boguslawsky, I. Arbeiten d. 2. Vers. russ. Naturf. z. Moskau 1869.

Borodin, J., I. Sitzungsber. d. bot. Sekt. d. Ges. d. Naturf., St. Petersburg 1883, nur russisch; das eingehendste Ref. darüber bei Modrakowsky, G., Über das Hesperidin in Conium maculatum. (Poln. Arch. f. biol. u. med. Wiss. 1905, Bd. III, Sep. Zitiert nach Tunmann.)

Borščow, E., I. Über die Verteilung einiger organischer Verbindungen in den Gewebselementen des Pflanzenkörpers. (Bot. Ztg. 1874, Jg. 32, p. 36.)

Brandt, I. Über einige neue Alkaloidreaktionen. Rostock 1876. Zitiert nach Wothtschall.

Brunswik, H., I. Über neuere Verfälschungen und Verschlechterungen von Drogen. 7. Mitt.: Melissa offic. (Ztschr. d. Allg. oest. Apothekervereins 1920, p. 201.)

—, II. Der mikrochem. Nachweis pflanzlicher Blausäureverbindungen. (Sitzungsber. d. Akad. d. Wiss. in Wien 1921, Bd. CXXX, p. 389.)

Cabannes, E., I. De la localisation des principes actifs dans la Rhamnus Purshiana. (Répert. de Pharm. 1896, T. LII, No. 3; Ref.: Justs bot. Jahrb. 1896, Jg. 24, Abt. I, p. 413.)

Dufour, J., I. Recherches sur l'amidon soluble etc. (Extr. d. Bull. de la Soc. va ud d. Scienc. nat. 1886, Vol. XXI, No. 93.)

Greshoff, M., I. Über die Verteilung der Blausäure in dem Pflanzenreiche. (Bull. sc. pharmacol. 1906, Bd. XIII, p. 589—602; desgl. Archiv d. Pharm. 1906, Bd. CCLIV, p. 397—400; Ref.: Justs bot. Jahrb. 1906, p. 774.)

—, II. Pharm. Weekblad 47.

Guignard, L., I. Recherches physiologiques sur la greffe des plantes à acide cyanhydrique. (Annal. des scienc. nat. Botanique. 1907, 9e sér., T. VI.)

—, II. Sur la localisation des principes, qui fournissent les essences sulfurées des Crucifères. (Comptes rend. Paris 1890, T. CXI, I. sem., p. 249.)

—, III. Le Haricot à acide cyanhydrique, Phaseolus lunatus L. (Compt. rend. Bd. CXLII, [1906], p. 552.)

Haberlandt, G., I. Das reizleitende Gewebesystem der Sinnpflanze. Leipzig 1890, p. 16.

Hanausek, T. F., I. Zur Kenntnis des Vorkommens und Nachweises der Saponinsubstanzen im Pflanzenkörper. (Chemiker-Ztg. Wien. 1892, Nr. 71 u. 72.)

—, II. Redul (folia Cariariae). (Pharm. Post. Wien. Dez. 1892.)

Harz, C. O., I. Über die Entstehung und Eigenschaften des Spergulins, eines neuen Fluoreszenten. (Bot. Ztg. 1877.)

Heinricher, E., I. Die Eiweißschläuche der Cruciferen und verwandte Elemente in der Rhoeadineenreihe. (Mitteil. a. d. Bot. Inst. z. Graz. 1888, p. 1.)

Herrmann, O., I. Nachweis einiger organischer Verbindungen in den veget. Geweben. (Diss. Leipzig 1876.)

Höhnel, F. v., I. Histochemische Untersuchungen über das Xylophilin und das Koniferin. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. i. Wien. Bd. LXXVI, p. 663.)

Janson, E., I. Über die Inhaltskörper der Myriophyllum-Trichome. Flora 1918, p. 265.

Jong, A. W. R. de, I. Einige Bemerkungen über Blausäurepflanzen. (Extrait des Ann. d. Jardin Bot. d. Buitenzorg, 1908, sér. 2, Vol. VII, p. 1.)

Klein, G., I. Die Verbreitung des Hesperidins bei den Galieae. [Ein neuer Fall von chem. Rassen.] (Sitzungsber. d. Akad. d. Wiss. i. Wien. 1921, Bd. CXXX, Heft 8 u. 9.)

—, II. Der histochemische Nachweis der Flavone. (Sitzungsber. d. Akad. d. Wiss. i. Wien. Bd. CXXXI, p. 23.)

Kozlowski, M. A., I. Sur la saponarine chez le Mnium cuspidatum. (Compt. rend. 1921, p. 429.)

Mandelin, I. Pharm. Zeitschr. f. Rußland. 1883, Nr. 22—24: Refer.: Justs bot. Jahrb. 1883, Abt. I, p. 75.

Molisch, H., I. Über das Vorkommen von Saponarin bei einem Lebermoos [Madotheka platyphylla]. (Ber. d. deutsch. bot. Ges. 1911, Bd. XXIX, p. 487.)

—, II. Ein neues Koniferinreagens. (Ebenda 1886, Bd. IV, p. 301.)

—, III. Beitr. z. Mikroch. Nr. 8: Über einen leicht kristallisierbaren, organischen Körper bei Linaria-Arten. (Ebenda 1917, Bd. XXXV, p. 99).

Molisch, H., IV. Über einige Beobachtungen an Mimosa pudica. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. i. Wien. 1915, Bd. CXXIV, Abt. I, p. 524.)

Peche, K., I. Mikrochemischer Nachweis der Cyanwasserstoffsäure in Prunus Laurocerasus L. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. i. Wien 1912, Bd. CXXI, Abt. I, p. 33—85.)

Pfeffer, W., I. Hesperidin, ein Bestandteil einiger Hesperideen. (Bot. Ztg. 1874. Jg. 32, p. 229.)

Pröscher, F., I. Untersuchungen über Raciborskis Myriophyllin. (Ber. d. deutsch. bot. Ges. 1895, Bd. XIII, p. 345.)

Raciborski, M., I. Über die Inhaltskörper der Myriophyllumtrichome. (Ber. d. deutsch. bot. Ges. 1893, Bd. XI, p. 348.)

Raczynski, S., I. Notice sur la distribution de la salicine dans les tissus de saules. (Bull. de la soc. imp. des natur. de Moscou 1866, No. 31.)

Rijn, J. J. L. van, I. Die Glykoside. Berlin 1900.

Rosenthaler, L., I. Beitr. z. Blausäurefrage. Schweiz. Apoth.-Ztg., 57. Jg., (1919), p. 267.

Rosoll, A., I. Über den mikrochemischen Nachweis der Glykoside und Alkaloide in den veget. Geweben. 1890. (25. Jahresber. d. niederösterr. Land.-Gymn. usw. in Stockerau. p. 8.)

— II. Beiträge zur Histochemie der Pflanze. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. i. Wien 1884, Bd. LXXXIX, Abt. I, p. 143.)

Schell, J., I. Über das Syringin. (Arb. d. Naturforscherges. a. d. Univ. zu Kasan. 1873, Bd. II; Ref.: Justs bot. Jahrb. 1873, p. 596.)

Singer, M., I. Beitr. zur näheren Kenntnis der Holzsubstanz und der verholzten Gewebe. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. i. Wien. 1882, Bd. LXXXV.)

Theorin, I. Växtmikrokemiska Studier. (Ofvernigt af Kongl. Vetenskaps Akad. förhandlingar 1884, No. 5.)

Treub, M., I. Sur la localisation, le transport et le rôle de l'acide cyanhydrique dans le Plangium edule Reinw. (Extrait des Annales du Jardin Bot. de Buitenzorg. 1895, Vol. XIII, p. 1—89.)

—, II. Nouvelles recherches sur le rôle de l'acide cyanhydrique dans les plantes vertes. (Ebenda 1905, 2. sér., Vol. IV; 1909, 2. sér., Vol. VIII.)

Tschirch, A., I. Handbuch der Pharmakognosie. 1914, p. 927.

Tunmann, O., I. Der Nachweis des Äskulins durch Mikrosublimation, speziell für die Diagnose des Rhizoma Gelsemii usw. (Apoth.-Ztg. Berlin 1911, p. 612.)

—, II. Zur Mikrochemie des Betulakampfers. (Apoth.-Ztg. Berlin 1911, Jg. 26, p. 344.)

—, III. Der weitere Ausbau der Mikrosublimationsmethode und der Nachweis des Arbutins in Pflanzen. (Ber. d. deutsch. pharm. Ges. 1911, Jg. 21, p. 312.)

—, IV. Über kristallinische Ausscheidungen in einigen Drogen (Hesperidine) usw. (Verh. Naturf. Ges. Salzburg 1910, II, I, p. 113. Schweiz. Wochenschr. f. Ch. u. Ph. 1909, Bd. XLVII, Nr. 51 u. 52.)

—, V. Über folia uvae ursi und den mikrochem. Nachweis des Arbutins. Pharm. Zentralh. 1906, Bd. XLVII, Nr. 46.

—, VI. Zur Mikrochemie des Äskulins und zum Nachweis dieses Körpers in Aesculus hippocastanum L. (Schweiz. Wochenschr. f. Chemie u. Pharmazie. 1916, Bd. LIV, p. 45—47.)

—, VII. Über das Hesperidin und die Kristalle von Hyssopus officinalis. (Apoth.-Ztg. Berlin 1915, p. 214.)

—, VIII. Der mikrochem. Nachweis des Baptisins in Baptisia tinctoria (Wurzel). (Ebenda, p. 272.)

Tutin, F., I. The proposed method of mikrosublimation for the detection of aesculin and the identification of Gelsemium. (The Pharm. Journ. and Pharmacist. 1912, Febr. 10.)

Vanderlinden, E., I. Recherches microchimiques sur la présence des alcaloïdes et des glycosides dans la famille de Ranonculacées. (Recueil de l'institut botanique [université de Bruxelles], 1902, T. V, p. 135.)

Vogl, A. E., I. Scrophularia nodosa L., its spaerocrystals and some allied bodies. (The Pharm. Journ. London 1896, 4. ser., vol. II, p. 101.)

Waage, Th., I. Über das Vorkommen saponinartiger Stoffe im Pflanzenreiche. (Pharm. Zentralhalle. 1892, Jg. 33. p. 657.)

Weevers, Th, I. Die physiologische Bedeutung einiger Glykoside. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1904. Bd. XXXIX.)

—, II. Rec. Trav. bot. néerland. 1910, T. VII, p. 1—62.

VIII. Pflanzenfarbstoffe.

1. Flechtensäuren und Flechtenfarbstoffe.

Allgemeines.

Zahlreiche Flechten bilden eigentümliche, sonst im Pflanzenreiche bisher nicht aufgefundene Stoffe, die sogenannten Flechtensäuren. Um die Erforschung dieser nur den Flechten eigentümlichen Substanzen haben sich namentlich Hesse, Paterno und Zopf sehr verdient gemacht. Zopf (I) hat als Botaniker uns eine ausgezeichnete Monographie und Hesse eine vortreffliche chemische Übersicht (I) über die Summe unserer derzeitigen chemischen Kenntnisse der Flechtenstoffe und Flechtensäuren beschert. Auf diese beiden Schriften sei besonders hingewiesen.

Die Flechten sind bekanntlich Doppelwesen, denn jede Flechte besteht aus einer Alge und einem Pilz. Es ist nicht unwahrscheinlich, daß dieser Symbiose die eigentümliche Natur und die erstaunlich große Zahl von Flechtensäuren zu verdanken ist. Wenn man nur die gut kristallisierenden Flechtensäuren betrachtet, so gibt es davon schon mehr als 140. Die meisten (etwa 94) gehören der aromatischen oder Benzolreihe und die übrigen der Fettreihe an.

Zur Fettreihe gehören zahlreiche farblose und gefärbte Flechtensäuren, zur Benzolreihe viele farblose, die bei gewissen Spaltungen Orcin oder dessen Homologe liefern und daher als Orcinderivate, und zahlreiche gefärbte Säuren, die sich vom Anthracen herleiten und als Anthracenderivate zusammengefaßt werden können.

In den meisten Fällen stellen die Flechtensäuren Auswurfstoffe dar, die niemals durch die Alge, sondern stets durch die Hyphen des Pilzes, und zwar nicht im Zellinnern, sondern an der Oberfläche der Hyphen abgeschieden werden (Zopf I, 339). Die Exkrete treten in Form von winzigen Körnchen, Stäbchen oder sogar in deutlichen Kriställchen auf. So findet man an den Hyphen von Lepraria candellaris Schaer und Coniocybe furfuracea Calycin- resp. Coniocybsäure-Kristalle von über 20 μ Länge. Die Menge der an Hyphen des Markes und der Rinde abgeschiedenen Flechtensäuren ist oft eine so große, daß die Zellen ganz inkrustiert erscheinen und die Säuren erst weggelöst

werden müssen, wenn man die Form der Zellen erkennen will. So erhielt Hesse aus Parmelia coralloidea, bezogen auf Lufttrockensubstanz, $23^1/_2\%$ Lecanorsäure, aus Lepraria chlorina $10^1/_2\%$ Vulpinsäure und Zopf aus Evernia prunastri L. var. sorediifera Ach. insgesamt $8^1/_2\%$ Flechtensäuren, darunter 5,3% Atranorsäure allein.

Ob die Flechtensäuren bloße Exkrete sind oder sonst noch für das Leben der Flechten etwas bedeuten, ist eine Frage, über die sehr verschiedene Ansichten ausgesprochen worden sind. Der gewöhnlichen Ansicht (Bachmann, Zukal, Stahl I), daß diese Stoffe Schutzmittel gegen Tierfraß darstellen und die meiner Meinung nach viel für sich hat, ist Zopf (I, 372) entgegengetreten. Nach ihm sind die Flechtensäuren im allgemeinen nicht imstande, Schutzmittel gegen Tierfraß abzugeben, da zahlreiche Flechten von verschiedenen Tieren (Glieder-, Weich- und Wirbeltieren) gefressen werden.

Über den Nachweis der Flechtensäuren in der Flechte selbst.

Man kann gerade nicht sagen, daß mikrochemische Reaktionen bisher bei systematischen Studien eine bedeutende Rolle gespielt haben, nur in der Flechtensystematik hat man immer wieder den Versuch gemacht, gewisse Farbenreaktionen zur Scheidung und Erkennung der Gattungen und Arten und zur Auffindung des Sitzes der Flechtensäuren zu verwerten. Einige Lichenologen wie Körber, J. Müller, Stein, Forsell, Jatta und Sydow hielten auf die Farbenreaktionen im Dienste der Systematik nicht viel, während andere wie Arnold, Wainio, Hue, Zahlbruckner, Leighton, Crombie, Olivier, Harmand, Sandstede, Zopf und andere von solchen Reaktionen regelmäßig Gebrauch machten und der Flechtensystematik damit gute Dienste leisteten. Man benutzt, wie ich aus dem Werk von Zopf (I, 343) entnehme, gegenwärtig folgende Reagentien zum Nachweis der Flechtensäuren und ihres Sitzes:

1. Alkalien: Kalilauge, Natronlauge, Sodalösung, Ammoniak, doppelkohlensaures Kali, doppelkohlensaures Natron.

2. Alkalische Erden: Ätzbaryt, Baryumsuperoxyd, Ätzkalk und Calciumsuperoxyd.

3. Unterchlorigsaure Salze (Hypochlorite): Chlorkalk, unterchlorigsaures Natron.

4. Mineralsäuren: Konzentrierte Schwefelsäure, Salpetersäure.

1. Ätzbaryt, $Ba(OH)_2$, und Kalkwasser, $Ca(OH)_2$,

werden in gesättigten Lösungen, die vor dem Gebrauch zu filtrieren sind, verwendet. Sie geben mit den meisten Flechtensäuren intensiv gelbe, rote, violette, spangrüne oder blaue Verbindungen, die im Wasser schwer oder völlig unlöslich sind und da niedergeschlagen werden, wo die Flechtensäuren ihren Sitz haben. Dies ist von Wichtigkeit, weil daraus die Verteilung der Flechtensäure im Thallus erkannt wird.

Mit Baryt- oder Kalkwasser liefern:

Gelbe Verbindungen: Atranorin, Evernsäure, Ramalsäure, Thamnolsäure, Hirtellsäure, Alectorialsäure, Leprarin.

Rostrote bis blutrote Verbindungen: Usnarsäure, Salacinsäure, Skopulorsäure, Kullensissäure.
Purpurviolette bis violette Verbindungen: alle vom Anthracen sich ableitenden Flechtensäuren: Physcion, Solorinsäure, Nephromin, Fragilin, Rhodophyscin, Orygmaeasäure, Endococcin, Blasteniasäure.
Blaue Verbindungen: Patellarsäure, Diploschistensäure.
Blaugrüne (spangrüne) Verbindungen: Olivetorsäure.

2. Chlorkalk, $Ca(ClO)_2$.

Man verwende eine Lösung, bestehend aus 1 Gewichtsteil Wasser und 2 Gewichtsteilen Chlorkalk. Die Lösung ist im Finstern aufzubewahren und von Zeit zu Zeit zu erneuern.

Mit Chlorkalk geben:

Blutrote, karmoisinrote oder rotviolette Färbungen: Lecanorsäure, Erythrinsäure, Erythrin, Olivetorsäure, Gyrophorsäure, Alectorialsäure, Glabratsäure, Betaerythrin, Porinsäure, Olivaceasäure, Olivacein und Stiktinin.
Grüne Färbungen: Pulverarsäure, Streptilin- und Porphyrilsäure.
Blaue Färbungen: Diploschistensäure und Patellarsäure.

3. Kalilauge, KOH.

Man verwendet gewöhnlich eine 30 bis 50proz. Lösung, am besten eine 50proz., da die Flechtensäuren in einer verdünnten Lösung zu rasch weggelöst werden und ihre Verteilung dann weniger leicht beurteilt werden kann. Handelt es sich um die Feststellung des Sitzes, so leistet Barytwasser bessere Dienste, da sich ein Niederschlag bildet.

In Kalilauge lösen sich:

Mit gelber Farbe: Atranorsäure, Thamnolsäure, Evernsäure, Ramalsäure, Stereocaulsäure, Hirtellsäure usw.
Mit purpurroter Farbe die Anthracenderivate: Physcion, Solorinsäure, Nephromin, Fragilin, Rhodophyscin, Endococcin und Blastenin.

4. Kalilauge und Chlorkalk.

Bekanntlich erleiden Flechtensäuren leicht eine Spaltung, so z. B. durch Kalilauge. Wenn daher gewisse Flechten direkt mit Chlorkalklösung keine Farbenreaktion geben, sondern erst nach vorhergehender Behandlung mit Kalilauge, so ist dies so zu erklären, daß die betreffenden Flechtensäuren durch das Alkali in Verbindungen gespalten werden, die sich mit Chlorkalk rot, violett oder orange färben. Schnitte durch Pertusaria faginea werden bei dieser Behandlung violett, weil die vorhandene Pikrolicheninsäure eine Spaltung in eine orcinähnliche Substanz erfährt.

5. Schwefelsäure.

Salacinsäure, Usnarsäure und Skopulorsäure färben sich mit konzentrierter Schwefelsäure anfänglich insensiv gelb, dann rot. Auch die entsprechenden Gewebe zeigen diese Färbungen, doch wird man bei Anwendung dieser Reaktion gewöhnlich nichts Sicheres über die

Verteilung der Flechtensäuren sagen können, weil die Schwefelsäure die Gewebe zerstört.

Durch vielfache Anwendung der angeführten Reagentien wurde erkannt, daß die Abscheidung der Flechtensäuren durch den Thallus und durch das Fruktifikationsgewebe erfolgen kann. Im Thallus tritt die Sekretion entweder nur in der Rinde oder nur im Marke oder — und das ist der gewöhnliche Fall — in beiden auf. Nur in der Rinde erscheinen Vulpin-, Rhizocarp-, Usnin-, Atranor-, Thamnol-, Alectorialsäure und Physcion. Nur im Mark treten auf: Solorin-, Pinastrin-, Olivetor-, Gyrophor-, Evern-, Ramal-, Barbatin-, Lecanor-, Glabratsäure und andere. Im Mark und in der Rinde findet sich die Salacinsäure bei Placodium alphoplacum.

Die Schlauchfrüchte (Apothecien) lassen bekanntlich außer der Apothecienhülle noch drei Gewebe unterscheiden: die Schlauchschicht oder das Hymenium, das subhymeniale Gewebe und das Hypothecium. Von allen diesen Geweben können Flechtensäuren abgeschieden werden. Im Hymenium sezernieren hauptsächlich die Enden der Paraphysen.

Es sollen nun im folgenden einige Flechtensäuren behandelt werden, um an diesen Beispielen darzutun, welche Mittel wir, abgesehen von den bereits angeführten Farbenreaktionen, derzeit besitzen, um die Flechtensäuren mikrochemisch nachzuweisen. Ich bemerke, daß sich hier für den Mikrochemiker ein noch weites Feld eröffnet, das erst urbar gemacht werden muß, da wir vielfach noch ganz am Anfange stehen. Senft (I, II) hat hier das Ölverfahren und die Mikrosublimation angewendet und damit Erfolge erzielt, und ich bin überzeugt, daß namentlich die letzte Methode bei ausgedehnter und vorsichtiger Anwendung noch zu weiteren Ergebnissen führen wird. Bevor ich auf die einzelnen Flechtensäuren eingehe, soll noch vorher das Ölverfahren kurz besprochen werden.

Das Ölverfahren (Senft I). Die meisten Flechtensäuren lösen sich in heißem Öl und kristallisieren beim Abkühlen wieder in charakteristischen Formen heraus. Unter den fetten Ölen empfiehlt sich hierzu ganz besonders wegen seiner Farblosigkeit das Knochenöl. Das Verfahren bietet den Vorteil, daß 1. für den Versuch ein winziges Stück des Flechtenthallus genügt, 2. daß das Verfahren auch dort verwertet werden kann, wo mehrere Flechtensäuren nebeneinander vorkommen, und 3. daß die Präparate auch dauernd aufbewahrt werden können. Senft beschreibt sein Verfahren wie folgt: „Um den Nachweis von solchen öllöslichen Flechtensäuren zu erbringen, wird ein Thallusstückchen, bei den Krusten- und Laubflechten am besten vom Rande der im Wachstum begriffenen Ränder oder, wo sorediöse Bildungen vorkommen, auch solche auf dem Objektträger in einem entsprechend großen Tropfen des Knochenöls mittels einer Lanzette oder eines Skalpells möglichst fein zerschnitten und zermalmt, indem man zum Schlusse das Präparat mit der flachen Seite des Instrumentes mit dem Öle zu einem Brei verreibt. Sollte danach zu wenig Flüssigkeit zurückbleiben, so wird noch ein Tropfen Öl zugesetzt. Darauf wird das Präparat mit einem nicht zu dünnen Deckgläschen bedeckt und über einer kleinen Flamme längere Zeit, aber mit kurzen Unterbrechungen erhitzt, wobei man unter Austritt von Luftbläschen meist auch eine Verfärbung des Öles wird wahrnehmen können. Darauf

wird das Präparat gequetscht und etwas seitwärts verschoben, so daß das Deckglas an einer Seite an dem Objektträger vollkommen anliegt, an der anderen durch nicht genügend zerkleinerte Flechtenstückchen etwas gehoben bleibt. Eventuell kann das Deckgläschen an einer Seite durch einen untergelegten Papierstreifen gehoben werden. Auf diese Weise sammelt sich die Flüssigkeit an einer Seite des Gläschens, und die größeren, das Bild störenden Partikelchen bleiben seitwärts. Das derart hergestellte Präparat taugt in den meisten Fällen nicht sofort zur Untersuchung, da die Flechtensäuren langsam auskristallisieren; es ist im allgemeinen zu empfehlen, das Präparat erst nach ungefähr einem Tag zu besichtigen. Bei einem reichen Gehalte an Flechtensäuren wird meist ein kleines Stück der Flechten zur Untersuchung ausreichen; sollte jedoch trotzdem ein solcher Versuch negativ ausfallen, so empfiehlt es sich, ein größeres Quantum der Flechte vorerst mit einem geeigneten Lösungsmittel: Chloroform, Benzol, Alkohol oder dergleichen in der Hitze zu extrahieren (einfach in der Eprouvette zum Sieden zu erhitzen), zu filtrieren, auf einem Uhrglas zu verdunsten und etwas von dem vollkommen trockenen Öldampfrückstande, wie oben angegeben, mit fettem Öl, umzukristallisieren."

a) Flechtensäuren der Methanreihe.

α) Pulvinsäurederivate.

Sie zeichnen sich insgesamt durch lebhaft gelbe, orangerote und mitunter auch rote Farbe aus und bedingen die auffallende Färbung vieler Flechten.

Vulpinsäure, $C_{19}H_{14}O_5$.

Vorkommen.

Cyphelium chrysocephalum Ach., Calycium chlorinum Körber (Lepraria-form), Evernia vulpina L., Cetraria tubulosa Schaerer und C. pinastri Scop.

Eigenschaften. Die Vulpinsäure hat in Masse eine zitrongelbe Farbe. Aus Äther oder Alkohol kristallisiert sie in schmalen Prismen, aus Benzol oder Chloroform in kurzen, dicken Platten. Monoklin. In Wasser ist sie so gut wie unlöslich, in Alkohol und Äther schwer, in Benzol etwas leichter und in Chloroform und Schwefelkohlenstoff reichlich löslich.

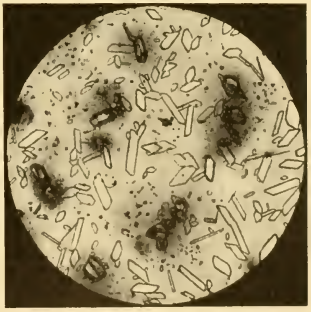


Fig. 67.

Vulpinsäurekristalle, durch Sublimation direkt aus der Flechte Evernia vulpina gewonnen Vergr. 180.

Nachweis.

1. Senft erhielt durch Umkristallisieren in Öl schöne zitrongelbe Blättchen, die sehr polymorph und häufig zu größeren Gruppen, mitunter zu Rosetten angeordnet sind.

2. Durch Mikrosublimation erhielt ich aus Evernia vulpina einen Anflug von verschiedenen gelben, meist wohl ausgebildeten Kristallen: Nadeln, Prismen, Plättchen, Rauten, Zwillingen usw. (Fig. 67).

Calicin, $C_{18}H_{12}O_5$.

Vorkommen.

Lepraria candellaris Schaer., L. chlorina Ach., L. chlorina Stenh. und. L. lava (Schreb.) f. querina Zopf., Chrysothrix nolitangere Mont.

Eigenschaften. Aus Alkohol stellt es feine Nadeln, aus Benzol, Chloroform oder Eisessig schmale Prismen von ziegel- bis chromroter Farbe dar. Rhombisch. Schmelzpunkt 242°. Bei höherer Temperatur sublimiert es unverändert und bildet rote feine Prismen. Alkohol, Äther, Petroläther und Eisessig löst in der Kälte schwer, in der Wärme etwas besser. Chloroform sowie Benzol lösen bei Erwärmung reichlich.

Nachweis.

1. Nach Zopf (I, 85) ist es möglich, in sehr kleinen Fragmenten calicinhaltiger Flechtenorgane das Calicin nachzuweisen, wenn man sie in einen kleinen Tropfen Chloroform einlegt, das Calicin leicht löst und dann Kali, Natronlauge oder Barytwasser zusetzt. Es bildet sich dann das entsprechende, intensiv rote calicinsaure Salz.

Aus heißem Öl kristallisiert das Calicin nach Senft (III) beim Abkühlen in dünnen, meist beiderseits zugespitzten, orangegelben Nadeln, entweder einzeln oder zu Rosetten gruppiert.

Stictaurin.

Vorkommen.

Sticta aurata Ach., flavicans Hook., orygmaea Ach., impressa M., Desfontainei var. munda Dl., glaucolurida Nyl., Stictina crocata L., gilva Thunbg., Candellaria concolor Dicks., vitellina Nyl., Gyalolechia aurella Hofm.

Eigenschaften. Aus Äther erhält man durch langsames Auskristallisieren breite, dünne, bis zu 2 mm lange Täfelchen von goldähnlichem Metallglanz und orangeroter bis hellrotbrauner Farbe. Aus der heißgesättigten, rasch erkaltenden ätherischen Lösung fallen feine Nädelchen aus, die unterm Mikroskop als schmale rhombische Prismen resp. Täfelchen erscheinen. Über ihre optischen Eigenschaften vgl. man Lüdecke in Zopf (I, 87). Stictaurin löst sich leicht in Chloroform, Benzol und Schwefelkohlenstoff, schwer in absolutem Alkohol, Äther, Eisessig, gar nicht in Wasser, konzentrierten Mineralsäuren und kalten Alkalien.

Nachweis. Senft (I) gewann aus heißem Öl das Stictaurin in langen derben, orange gefärbten, meist zu lockeren Rosetten verbundenen, an beiden Enden gewöhnlich abgestumpften Formen. Außerdem in Spindelkörpern mit rauher Oberfläche und in kugeligen Massen von kristallinischer Struktur.

Sitz. Das Stictaurin wird bei Sticta aurata im Mark und an den Soredienrändern gebildet und verleiht diesen Teilen ihre dottergelbe Farbe. Hingegen scheiden Candellaria concolor, vitellina, medians

und Gyalolechia aurella den Stoff in der Rinde des Thallus und der Früchte ab, wodurch ihre dottergelbe Farbe bewirkt wird.

Rhizocarpsäure, $C_{28}H_{22}O_7$.

Vorkommen.

Rhizocarpon geographicum L., Rh. viridiatrum Flke., Calycium hyperellum Ach., Acolium tigillare Ach., Catocarpus oreites Wainio, Biatora lucida Ach., Rhaphiospora flavoriescens Borr. und Pleopsidium chlorophanum Wahlbg.

Eigenschaften. Aus Äther oder Alkohol erhält man lange zitrongelbe Prismen vom Schmelzpunkt 177 bis 179°. Kalter Alkohol löst schwer, Äther, Eisessig besser, Benzol, Chloroform und Schwefelkohlenstoff sehr leicht. Schwefel- oder Salpetersäure lösen mit gelber. Ätz- und kohlensaure Alkalien mit gelber bis gelbgrüner Farbe.

Nachweis. Aus heißem Öl erhält man nach Senft intensiv zitrongelbe oder goldgelbe Kristalle von verschiedenen Typen: Prismenrosetten, Büschel, Fächer, Bäumchen und andere. Die Kristalle sind nach dem oberen Ende meist verbreitert.

Sitz. Die Säure findet sich bei den genannten Flechten, die eine Differenzierung in Rinde und Mark zeigen, stets nur in der Rinde abgesondert und verleiht den betreffenden Arten eine lebhaft schwefel-, zitrongelbe oder gelbgrüne Färbung.

Pinastrinsäure, $C_{19}H_{14}O_6$.

Vorkommen.

Cetraria pinastri Scop., tubulosa Schreb. und Lepraria flava Schreb.

Eigenschaften. Aus Äther oder Alkohol kristallisiert die Säure in Prismen und schmalen Platten, die in Massen goldgelb bis orangerot aussehen. Aus Chloroform erhält man rhombische Kristalle mit starkem Pleochroismus von Rotbraun nach Gelb. In Äther und Alkohol ist die Säure schwer löslich, besser bei höherer Temperatur, leicht löslich in Chloroform oder Benzol. Alkalien, deren Karbonate und konzentrierte Schwefelsäure lösen mit gelber Farbe.

Nachweis. Nach Senft kristallisiert Pinastrinsäure aus heißem Öl in zitron- oder goldgelben, scharf zugespitzten Nadeln einzeln oder in Büscheln, Garben und Rosetten vom Aussehen des Phenylglykosazon. Manche dieser Kristalle sehen denen der Rhizocarpsäure ähnlich, von der sie aber leicht zu unterscheiden sind, da die Pinastrinsäurekristalle stets zugespitzt und nicht an dem einen Ende erweitert sind, wie die der Rhizocarpsäure.

Sitz. Die Cetrarien scheiden die Pinastrinsäure reichlich an den Hyphen des Markes sowie an den die Ränder des Thallus besetzenden Soredienhäufchen aus und erscheinen an diesen Stellen goldgelb.

β) Acetylessigsäurederivate.

Usninsäure, $C_{18}O_{16}H_7$.

Vorkommen.

Diese Säure findet sich in verschiedenen Familien vor, die den Gruppen der Parmeliales und Lecideales angehören. Man hat bereits bei 70 Arten die Usninsäure

festgestellt, z. B. bei Cladina silvatica L., Cladonia digitata L., C. bellidiflora Ach. Biatora lucida Ach., Rhizocarpon geographicum L., Usnea hirta L., Alectoria sarmentosa Ach., Ramalina fraxinea L., Evernia prunastri L., Parmelia conspersa usw.

Eigenschaften. Aus Benzol und Chloroform kristallisiert die Usninsäure bei langsamem Auskristallisieren in breiten, relativ dicken Platten von zitrongelber Farbe, die dem rhombischen System angehören (Kappen in Zopf I, 105). Zopf erhielt aus schwachem Alkohol sehr dünne elliptische Blättchen, aus Äther schmale Prismen. Unlöslich in Wasser, kaum oder schwer löslich in kaltem Alkohol und Äther, gut löslich in heißem Eisessig, Benzol und Chloroform. In Ammoniak löst sie sich schwer, in Kalilauge und Barytwasser leichter mit gelber Farbe, die beim Erwärmen in Braun übergeht. Durch Spuren von Eisenchlorid wird sie rot bis rotbraun. Es gibt drei verschiedene, aber gleich zusammengesetzte Modifikationen der Usninsäure, eine rechts-, eine linksdrehende und eine inaktive.

Nachweis. Aus heißem Öl erhält man nach Senft die Usninsäure in säulchenförmigen, meist rechtwinklig abgestutzten Kriställchen; mitunter finden sich auch Formen, die an einem Ende nadelförmig zugespitzt, schief abgestutzt oder abgerundet sind. Die Kristalle sind entweder einzeln oder zu Rosetten vereinigt und haben eine blaßgrüne Farbe.

b) Flechtensäuren der Benzolreihe.

α) Anthrazenderivate.

Diese, sich von dem Kohlenwasserstoff Anthrazen ableitenden Flechtensäuren zeichnen sich durch zitronen-, ocker-, goldgelbe, gelbbraune-, orange, zinnober-, chrom-, rubinrote, rotbraune oder violettbraune Farbe aus, geben mit Ätzalkalien purpurne bis violette, selten bräunlich-rötliche, mit konzentrierter Schwefelsäure purpurne, gelbrote oder grüne Lösungen und mit Kalk- oder Barytwasser purpurne, purpurviolette oder violette, seltener braune, in Wasser unlösliche Verbindungen.

Es gehören dazu:

1. Physcion oder Parietin, 2. Solorinsäure, 3. Nephromin[1]), 4. Orygmaeasäure, 5. Rhodophyscin, 6. Fragilin, 7. Endococcin, 8. Blasteniasäure, 9. Hymenorhodin und 10. Rhodokladonsäure. — Zopf (I, 303) hat für diese Stoffe folgende Bestimmungstabelle angegeben:

A. in konzentrierter Schwefelsäure mit anfänglich purpurner, bald aber grün werdender Farbe löslich.
   1. in Sodalösung unlöslich: Endococcin.
   2. „ „ löslich: Rhodophyscin.

B. in konzentrierter Schwefelsäure mit purpurner oder himbeerroter, nicht grün werdender Farbe löslich.
   1. in doppelkohlensaurem Natron löslich: Orygmaea-, Blastenia-, Rhodokladonsäure.
   2. in doppelkohlensaurem Natron unlöslich:

1) Früher mit Emodin verwechselt (Bachmann IV).

a) in Natronlauge unlöslich: Hymenorhodin;
b) in kalter Sodalösung unlöslich: Fragilin, Physcion;
c) in kalter Sodalösung löslich: Solorinsäure. Nephromin.

Physcion (Parietin), $C_{16}H_{12}O_5$.

Für dieses Anthrazenderivat gab sich schon lange bei den Chemikern ein großes Interesse kund. Es wurde mit verschiedenen Namen bezeichnet: Parmelgelb (Schrader), Chrysophansäure (Rochleder und Heldt), Parietin (Thompson und Zopf), Physciasäure (Paterno), Chrysophyscin (Lilienthal) und Physcion (Hesse).

Vorkommen. Das Physcion wurde bisher nur in der Familie der Theloschisteen nachgewiesen, und zwar bei: Xanthoria parietina L., X. polycarpa Ehrb., X. lychnea Ach. var. pygmaea Borr., Theloschistes flavicans Sw., Placodium cirrhochroum Ach., P. elegans Lk., P. murorum Hoffm., P. decipiens Arn., P. sympageum Ach., Fulgensia fulgens Sw., Callopisma flavovirescens Hoffm. und C. Jungermanniae Vahl. Siehe Zopf (I).

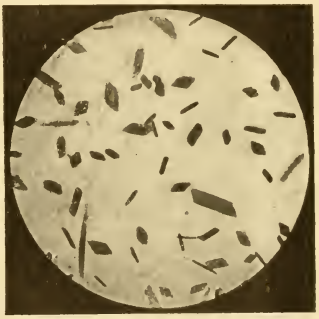


Fig. 68.
Physcionkristalle, durch Sublimation direkt aus Xanthoria parietina gewonnen. Vergr. 180.

Eigenschaften. Kristallisiert aus heißer, gesättigter Benzollösung beim allmählichen Verdunsten in strahligen Aggregaten von goldgelber Farbe, bei der Sublimation in gelben Nadeln und Blättchen. Es löst sich im allgemeinen langsam, am raschesten noch in Chloroform, dann in absteigender Reihenfolge in Aceton, Benzol, Eisessig, Schwefelkohlenstoff, Äther, Petroläther und abs. Alkohol. Im Wasser ist es so gut wie unlöslich. Schmelzpunkt etwa 207°.

Wässerige kohlensaure Alkalien lösen in der Kälte so gut wie nicht, verdünnte Kali- oder Natronlauge lösen leicht mit blutroter Farbe, ebenso Schwefelsäure.

Nachweis. Genaue Angaben über den mikrochemischen Nachweis verdanken wir Senft (I). Er untersuchte mikrochemisch das reine, das rohe Physcion und die Flechte selbst.

a) Reines Physcion stellt unterm Mikroskop dünne, zitronengelbe, rechteckig abgestuzte Plättchen dar. Läßt man darauf 10% Kalilauge einwirken, so löst es sich mit kirschroter Farbe auf unter gleichzeitiger Bildung eines flockigen kristallinischen Niederschlags, der aus dünnen rotvioletten, zu Büscheln vereinigten Schüppchen besteht. Nach ½ Stunde oder später verschwinden sie und an ihrer Stelle entstehen 1 μ dicke und 7—30 μ lange Nadeln von der Farbe des Kaliumpermanganats.

b) Konz. Schwefelsäure löst das Physcion mit purpurroter Farbe, allmählich verblaßt die Färbung und nach etwa ½ Stunde

entstehen kurze, gelbe, dünne, stark gebogene oder spiralig gedrehte Kristallfäden, die sich später zu Büscheln gruppieren. Sehr charakteristisch!

c) Der Sublimation unterworfen, bildet das Physcion einen dichten, gelben Anflug zuerst pulverig, dann aus gelben Nadeln und Plättchen bestehend.

d) Physcion kristallisiert aus heißem fetten Öl (am besten aus Knochen- oder Paraffinöl) nach längerer Zeit in gelben, häufig zu Garben und Büscheln angeordneten Nadeln und dünnen Blättchen.

e) Alkalische Erden. (Kalk, Baryt, Strontium) färben die Kristalle nach einiger Zeit purpurrot, wobei diese ihre Form und ihre Doppelbrechung behalten.

Die angeführten Reaktionen gelingen, falls die Flechte mit Physcion reichlich versehen ist, auch sehr gut mit Schnitten oder kleinen Fragmenten der Flechte selbst. Namentlich mit den durch Sublimation gewonnenen Kristallen treten sie in voller Reinheit auf. Die Sublimate werden besonders deutlich, wenn man sie mit einer wässerigen Lösung von kohlensaurem Ammon behandelt. Jeder Kristall färbt sich rot und tritt ungemein scharf hervor (Fig. 68).

Fig. 69.
Solorinsäurekristalle, durch Sublimation direkt aus der Flechte Solorina crocea gewonnen. Vergr. 180.

Solorinsäure, $C_{15}H_{14}O_5$.

Vorkommen und Sitz.

Die alpine Flechte Solorina crocea L. zeigt auf der Unterseite des Thallus eine orangerote Farbe, die von Solorinsäure herrührt. Der Farbstoff sitzt in Form eines feinkörnigen mehr oder minder homogenen Überzuges den Hyphen auf.

Eigenschaften. Bildet rote glänzende Kriställchen, die in größerer Menge rubinrot, mit einem Stich ins Braune erscheinen. Sechsseitige Blättchen mit den Flächenwinkeln 135°, 84° und 141°, pleochroitisch, monoklin (?). Aus heißer Benzollösung erhält man feinste Nädelchen.

Unlöslich in kaltem und heißem Wasser, sehr schwer löslich in Äthylalkohol, Methylalkohol, Äther, besser in Chloroform und Benzol mit rotgelber oder rotbrauner Farbe.

Kali- und Natronlauge lösen mit violetter, Ammoniak und kohlensaure Alkalien in der Kälte schwer mit purpurvioletter Farbe. Baryt- und Kalkwasser bilden unlösliche, dunkelviolette Verbindungen. Selbst eine so schwache Säure wie die CO_2 fällt aus den alkalischen Lösungen die Substanz wieder aus. Konz. Schwefelsäure löst mit purpurner bis violetter Farbe, die nicht grün wird (Zopf I, 311).

Nachweis. Alle die erwähnten Farbenreaktionen gelingen auch mit dem Farbstoff auf den Hyphen selbst.

Bei der Sublimation erhält man entweder gelbe bis orangerote Tröpfchen, aus denen bei langsamer Abkühlung der Farbstoff gewöhnlich in Form von orangeroten Schollen, Blättchen oder Dendriten ausfällt. Oder es treten direkt orangerote Kristalle auf: Nadeln, Prismen, winkel-, säbel- und schwertartige Formen, oft von bedeutender Größe (Fig. 69).

Rhodocladonsäure, $C_{15}H_{10}O_8$.

Vorkommen.

In den scharlachroten Schlauchfrüchten von Cladonia Flörkeana Fr., macilenta Hoffm., digitata Schaer., incrassata Flörke, coccifera L., var. pleurota Flörke, var. stemmatina Ach., var. extensa Ach., bellidiflora Ach., deformis Hoffm., baccilaris Nyl. var. clavata (Ach.) Wainio. Siehe Zopf (I, 321).

Eigenschaften. Aus Eisessig erhält man beim langsamen Auskristallisieren breite, verkehrt keilförmige Blättchen, beim raschen Auskristallisieren lange, schmale, dolchartige Blättchen, aus Chloroform kurze rechtwinklig oder nahezu rechtwinklig abgestumpfte mennigrote Blättchen. Die Auslöschungsrichtung der Blättchen oder der keilförmigen Platten ist parallel und senkrecht zur Längsrichtung. Nicht pleochroitisch. Äther löst kaum, kalter abs. Alkohol, Benzol oder Aceton sehr schwer. Verdünnte Kali- oder Natronlauge und die entsprechenden Karbonate lösen mit bräunlich-rötlicher bis purpurvioletter und Schwefelsäure mit intensiv himbeerroter Farbe.

Nachweis und Sitz. Untersucht man die auffallend roten Askushymenien von Cladonia bellidiflora, so findet man in einer dünnen äußersten Schicht die Hyphen mit orange- bis braunroten Körnchen bedeckt, die die eben angeführten Farbenreaktionen geben. Sublimiert man die roten Fruktifikationsorgane, so erhält man blaßgelbe Kristalle: Nadeln und schief abgestutzte Prismen von den Eigenschaften der Rhodocladonsäure.

Weitere Angaben über den mikrochemischen Nachweis der Rhodocladon- und Solorinsäure findet man bei Senft (IV).

β) Orcinderivate.

Es gibt eine große Reihe von Flechtensäuren, die bei Behandlung mit Wasser, Alkalien, alkalischen Erden, Eisessig und anderen Substanzen Orcin oder diesem nahe verwandte Stoffe wie Betaorcin, Dimethylphendiol, Orselinsäure u. a. abgespalten.

Das Orcin $C_7H_8O_2$ ist ein farbloser, in Prismen vom Schmelzpunkt 56—57° kristallisierender Körper, der bei Gegenwart von Sauerstoff und Ammoniak sich in Orceïn, $C_{28}H_{21}N_2O_7$ umwandelt. Dieser Körper stellt ein braunes Pulver dar, das aus wässerigem Alkohol kleine Kriställchen liefert. Er löst sich in Alkohol mit karminroter Farbe und färbt sich mit Ammoniak, Alkalien und Alkalikarbonaten blauviolett. Das Orceïn bildet den wesentlichen Bestandteil der technisch verwendeten Orseillefarbstoffe, worüber man die zusammenfassenden Darstellungen von Krasser (I) und Rupe (I) vergleiche. Hier sei nur kurz folgendes hervorgehoben.

Das ältere Verfahren der Orseillegewinnung bestand darin, daß man die Flechten mit Urin übergoß, faulen ließ und schließlich Ätzkalk hinzufügte. Bei der eintretenden Gärung, an welcher Bakterien beteiligt sind, wird der Harnstoff des Urins in kohlensaures Ammon übergeführt und dieses wirkt spaltend auf die Flechtensäuren ein, wobei Orcin und weiters Orceïn entsteht. So meint Zopf (I, 387), während Czapek (II) der Ansicht ist, daß nicht das Ammoniak, sondern eine im Harn vorkommende, dem Heubacillus ähnliche Bakterie die Spaltung der Flechtensäuren in Orcin bewerkstellige.

Ähnlich ist das Verfahren bei der Bereitung des Lackmus. Die Gärung wird bei gleichzeitiger Anwesenheit von Kalk oder Pottasche und Ammoniak sehr lange in Gang erhalten. Es entsteht hierbei aus den Flechten (Roccella) ein mit Orceïn verwandter stickstoffhaltiger Körper, das Lackmus, welches bei der Analyse bekanntlich eine sehr wichtige Rolle spielt.

Für die Darstellung der Orseille kommen in der Praxis nur wenige Spezies von Farbflechten in Betracht. Es gehören hauptsächlich hierher: Roccella fuciformis (L.) DC., Montagnei Bél., portentosa Mtg., tinctoria DC., phycopsis Ach. u. a. Zur Erkennung der orcinliefernden Flechten kann man mit Vorteil die Homofluoresceïnprobe verwenden. Sie beruht darauf, daß Orcin beim Erwärmen mit Chloroform und Ätzalkalien einen Farbstoff, das Homofluoresceïn liefert, dessen alkalische Lösung im durchfallenden Lichte rotgelb erscheint, im auffallenden aber gelbgrün fluoresziert. Zur Ausführung der Reaktion erwärmt man Stückchen der fraglichen Flechte mit verdünnter Kali- oder Natronlauge, erzeugt hierdurch Orcin, das nun bei Zusatz eines Tropfens Chloroform und längerem Erwärmen im Wasserbade den Farbstoff und seine Fluoreszenz ergibt (Schwarz I). Von den Orcin liefernden Flechtensäuren sei hier behandelt die:

Lecanorsäure, $C_{16}H_{14}O_7$.

Vorkommen.

In Roccella tinctoria L., canariensis Darbish, portentosa Montg., sinensis Nyl., Pertusaria lactea Nyl., Parmelia tinctorum Despr. und anderen.

Eigenschaften. Aus Äther oder Alkohol kristallisiert Lecanorsäure in feinen, weißen, zumeist zu Rosetten vereinigten Nädelchen. Leicht löslich in Aceton, heißem Alkohol und heißer Essigsäure, weniger leicht in heißem Äther. Die alkoholische Lösung wird durch Chlorkalk blutrot und durch eine Spur Eisenchlorid purpurrot. Die feste Substanz wird durch Chlorkalk gleichfalls blutrot, später aber nicht blau. Barytwasser färbt weder blau noch blaugrün. — Wird Lecanorsäure gekocht, so entsteht nach Schunck anfänglich Orsellinsäure $C_{16}H_{14}O_7 + H_2O = 2C_8H_8O_4$ und bei andauerndem Kochen wird diese in Orcin und Kohlensäure umgewandelt. Vollständiger und rascher treten diese Zersetzungen beim Kochen mit Lösungen der Ätzalkalien und der alkalischen Erden ein (Zopf I, 134).

Nachweis. Die Chlorkalkreaktion läßt sich mit der Flechte direkt ausführen. Wird ein Schnitt z. B. durch den Thallus von Roccella tinctoria mit einer Chlorkalklösung betupft, so färbt er sich augenblicklich blutrot. — Man kann auch, wie ich gefunden habe, die

Lecanorsäure direkt aus der Flechte am Objektträger zum Auskristallisieren bringen, wenn man einige Thallusstücke unterm Deckglas mit Alkohol versieht und ihn verdampfen läßt. Es bilden sich dann oft am Rande des Deckglases neben formlosen Krusten zahlreiche Nadel- oder Spießrosetten von Lecanorsäure.

Mit der Lecanorsäure verwandt ist das Erythrin, $2C_{20}H_{22}O_{10}$. Es wurde bisher in Roccella Montagnei Bell, fuciformis L., peruënsis Kremph. und phycopsis Ach. nachgewiesen (Zopf I, 142). Erythrin verhält sich gegenüber Chlorkalk und Eisenchlorid wie Lecanorsäure. Da auch noch zahlreiche andere Flechtensäuren mit Chlorkalk rote oder ähnliche Färbungen geben (vgl. p. 207), so darf nicht ohne weiteres aus einer Rotfärbung auf eine bestimmte Säure geschlossen werden. Dies ist nur dann erlaubt, wenn die Makroanalyse nur eine Flechtensäure, die mit Chlorkalk eine rote Färbung gibt, in der Flechte dargetan hat.

c) Nicht kristallisierende Flechtenfarbstoffe.

Neben den Flechtensäuren, die sich gewöhnlich durch gute Kristallisationsfähigkeit auszeichnen, gibt es noch eine Anzahl nicht kristallisierender Farbstoffe, die entweder den Membranen eingelagert sind (Membranfarbstoffe) oder tröpfchenartige Inhaltskörper der Hyphen bilden (Raeomyces roseus Pers.) oder den Membranen als amorphe Exkretmassen aufgelagert erscheinen. Um die Kenntnis dieser Farbstoffe hat sich namentlich Bachmann (I, II, III) verdient gemacht, indem er auf das Vorkommen dieser Farbstoffe nachdrücklich hinwies und sie mikrochemisch nachzuweisen versuchte. Von amorphen Farbstoffexkreten hat Bachmann zwei beobachtet: das Arthoniaviolett und das Urcellariarot.

Das Arthoniaviolett findet sich in allen Teilen von Arthonia gregaria. Es ist in Kalk- und Barytwasser unlöslich, in kaltem Wasser wenig, in heißem dagegen leicht löslich. Alkohol gibt eine weinrote, Kalilauge eine violette, Salpetersäure eine rote und Schwefelsäure eine indigblaue, zuletzt malvenbraune Lösung.

Urcellariarot kommt im Thallus der Urceolaria ocellata DC. vor. Der Farbstoff bedeckt die Hyphen des locker-filzartigen Markes in Form kleiner runder Flecken und dringt wahrscheinlich auch in die Membranen bis zu einer gewissen Tiefe ein. Er bleibt in Alkohol unverändert, in Kalilauge, Barytwasser, starker Salpeter- und Schwefelsäure wird er mit gelbbrauner Farbe gelöst. Chlorkalk entfärbt, Kalkwasser und Ammoniumkarbonat bringen keine Veränderungen hervor.

Leider steht bei den von Bachmann behandelten Farbstoffen die makrochemische Analyse noch aus, wir kennen von diesen Farbstoffen meist nur den Namen und ein paar äußere Kennzeichen. Da aber diese und gewisse Farbenreaktionen namentlich für den Flechtensystematiker doch von Wichtigkeit sind, so kann ich hier darüber nicht ganz hinweggehen und will wenigstens eine tabellarische Übersicht [s. p. 218 und 219] (Bachmann I, 52; Fünfstück I) über diese Farbstoffe mitteilen. Bachmann hat 120 Flechtenarten untersucht und 19 Membranfarbstoffe charakterisiert. Sie sind gewöhnlich nicht im ganzen

d) Reaktionen nicht kristallisierter Flechtenfarbstoffe.

Name des Farbstoffes bzw. der farbstoffführenden Flechte	Aussehen des Farbstoffes	KOH	NH_3	HNO_3	H_2SO_4	Weitere Reaktionen:
Lecideagrün	grün	—	—	kupfer- bis weinrot	—	erst KOH, dann HCl: blau
Aspicilagrün	grün	—	—	—	—	HNO_3: lebhafter und reiner grün
Bacidiagrün	grün	—	—	violett	violett	HCl: violett
Thalloidimagrün	grün	violett	—	undeutlich purpurrot	undeutlich purpurrot	HCl: undeutlich purpurrot
Rhizoidengrün	bläulichgrün	olivengrün bis brau	—	olivengrün	—	—
Biatora atrofusca	blau	löst mit grünblauer Farbe	—	violett, dann gelb, endlich Entfärbung	löst auf	—
Lecidea enteroleuca, L. platicarpa, L. Wulfeni, Biatora turgidula, Bilimbia melaena, die Oberfläche der Früchte	blau	blaugrün bis olivengrün	blaugrün bis olivengrün	kupferrot	—	—
Phialopsis rubra	ziegelrot	färbt trüb purpurrot	färbt trüb purpurn	violett	—	—
Lecanorarot	purpurrot	färbt tief violett	färbt tief violett	färbt heller	—	—
Sagedia declivum	bläulichrot	blau (grün)	erst grünblau, dann grauschwärzlich	—	—	$Ba(OH)_2$: blau

Name des Farbstoffes bzw. der farbstoffführenden Flechte	Aussehen des Farbstoffes	KOH	NH_3	HNO_3	H_2SO_4	Weitere Reaktionen:
Verrucaria Hoffmanni f. purpurascens	rosenrot	—	dunkelgrün	—	—	erst KOH, dann HNO_3, dann H_2SO_4: violette Kristalle
Cladonia coccifera, Apothecienköpfe	scharlachrot	—	braun	—	entfärbt	aus der wäss. Lösung schlägt Eisessig purpurrote Flocken nieder
Bacidia fusco rubella	gelbbräunlich	—	violett	—	—	—
Lecidea crustulata, L. granulata, Buellia parasema, B. punctata, Opegrapha saxicola, O. atra, Arthonia obscura, A. vulgaris, Bactrospora dryina, Sarcogyne pruinosa, Apothecien	braun	färbt dunkler	—	—		$Ca(OCl)_2$ entfärbt schließlich vollständig
Sphaeromphale clopismoides	lederbraun	intensiv olivengrün	—	—	—	erst KOH, dann H_2SO_4, dann HNO_3: schwärzlich
Segestria lectissima, Perithecien	gelbbraun	morgenrot	—	hellgelb	—	verdünnte H_2SO_4: hellgelb
Segestria lectissima, das übrige Gewebe	braun und farblos	—	—	—	—	konz. H_2SO_4: intensiv violett, schließlich grau
Parmelia glomellifera	lederbraun	—	—	blau, dann violett, endlich grau	—	$Ca(OCl)_2$: erst blaugrün, dann unscheinbar grau
Parmeliabraun	gelb- bis schwarzbraun	schmutzig- bis olivenbraun	—	hell rotbraun	—	—

Thallus verteilt, sondern lokalisiert. Fast immer in der Rinde. Die Hyphen der Gonidienschicht sind stets farblos. Im Apothecium kann das Epithecium, der thalloidische Rand, das Hypothecium und seltener das Hymenium Sitz des Farbstoffs sein. Im Hymenium sind nur die Paraphysen, nicht die Schläuche gefärbt. Innerhalb der Hyphenmembranen ist das Pigment zumeist ungleichmäßig verteilt und die Mittellamelle am reichlichsten mit Farbstoff versehen.

2. Pilzfarbstoffe.

Die Zahl der bei den Pilzen auftretenden Farbstoffe ist im Gegensatz zu den höheren Pflanzen eine ungemein große (Zopf II, Nadson I. Zellner I). Es eröffnet sich hier für den Chemiker ein weites Arbeitsfeld, denn die Chemie dieser Farbstoffe ist noch sehr wenig untersucht worden und von den meisten kennt man die chemische Zusammensetzung nicht. Ich werde mich daher hier mit der Anführung einiger weniger Beispiele begnügen.

Thelephorsäure.

Vorkommen.

Dieser von Zopf (II, 69) untersuchte und benannte Farbstoff findet sich in einigen zu den Basidiomyceten gehörigen Thelephora-Arten, Th. palmata Scop., flabelliformis Fr., caryophyllea Schäff., terrestris Ehrb., coralloides Fr., crustacea Schum., intybacea Pers., laciniata Pers. und außerdem bei den Stachelschwämmen Hydnum ferrugineum und H. repandum. Der Farbstoff inkustriert die Membranen.

Eigenschaften. Kristallisiert aus heiß gesättigter alkoholischer Lösung in veilchen- bis indigoblauen Kriställchen und Drusen. Sie sind unlöslich in Wasser, Äther, Chloroform, Petroläther, Schwefelkohlenstoff und Benzol, ziemlich leicht löslich in Alkohol mit weinroter Farbe. Konzentrierte Schwefelsäure oder Salzsäure lösen weder, noch verfärben sie, hingegen lösen konzentrierte Essigsäure mit rosen- oder weinroter, Salpeter- und Chromsäure mit gelber Farbe. Alkalien lösen zwar nicht, verfärben aber; und zwar Alkalien ins Blaugrüne und Ammoniak, Ammonkarbonat und Soda ins Reinblaue.

Xanthotrametin.

Zopf (II, 85) hat diesen roten Farbstoff aus Trametes cinnabarina zuerst dargestellt.

Eigenschaften. Kristallisiert aus heißem Alkohol in großen, schon mit bloßem Auge sichtbaren roten Drusen und Einzelkristallen. Diese sind spindelförmig und schwach pleochroitisch-rotbraun bis rötlich gelb. Konzentrierte Salpetersäure löst mit tief orangeroter, konzentrierte Salzsäure mit orangegelber, konzentrierte Schwefelsäure mit rosenroter und Eisessig mit gelber Farbe. Ammoniak und Alkalien geben gelbe Lösungen.

Sitz. Der Farbstoff ist besonders den Hyphen des Hymeniums, aber auch denen der übrigen Hutteile in Form von körnigen, ziegelroten Überzügen aufgelagert, neben welchen sich auch ein gelber Farbstoff (Harzsäure) vorfindet.

Chinonartiger Farbstoff.

An den Hyphen von Paxillus atrotomentosus kommt, kristallinisch aufgelagert, ein Farbstoff vor, den THÖRNER (1) näher untersucht und dem er die Formel $C_{11}H_8O_4$ gegeben hat. An der Oberfläche des Pilzes sind die Kristalle braun, im Innern schwach grau oder gelblich, an der Luft werden sie gleichfalls braun. Sie stellen nach THÖRNER einen hydrochinonartigen Körper dar, der sich allmählich zu dem betreffenden Chinon umwandelt.

Eigenschaften. Aus kochendem Alkohol fällt der Farbstoff in dunkelbraunen, metallisch glänzenden Blättchen aus, die sich in kochendem Alkohol oder Eisessig mit schön weinroter, in Alkalien mit grüngelber Farbe lösen, hingegen sich in Wasser, Ligroin, Benzol, Chloroform und Schwefelkohlenstoff nicht lösen.

Carotinartige Farbstoffe.

Bei zahlreichen Pilzen kommen Carotine (vergleiche über den Begriff Carotin das später Gesagte) vor, die ihnen eine gelbe, orangerote oder rote Farbe verleihen. Wenn diese Farbstoffe in Fett gelöst auftreten, werden sie auch als Lipochrome bezeichnet. Sie geben mit konzentrierter Schwefelsäure die typische Carotinreaktion, eine Blaufärbung, und ZOPF (IV) konnte zeigen, daß hierbei auch blaue, kristallisierende Verbindungen entstehen.

Staphylococcus rhodochrous Z. besitzt eine prächtig rote Farbe. Läßt man zu einer Kolonie dieser Bakterie, die trocken zwischen Objektträger und Deckglas liegt, ein Tröpfchen konzentrierter Schwefelsäure zufließen, „so sieht man, wie in der Spaltpilzmasse nach kurzer Zeit rötliche Kriställchen auftreten, und zwar in auffälligen Zusammenhäufungen von der Form lockerer Nester oder mehr dendritischer Gruppen, bisweilen von förmlichen Schollen; auch sternförmige Drusen oder eckige Körper entstehen mitunter. Allmählich färben sich nun die Kristalle ins Violette, dann ins Berlinerblau, schließlich ins Indigblau um“ (ZOPF IV, 174). Noch zahlreiche andere gelbe, orangerote, rosagefärbte Spaltpilze und Rosahefen enthalten Carotine. Die roten Carotine dürfen nicht mit den roten Farbstoffen (Prodigiosin) anderer Schizomyceten (Bacterium prodigiosum) verwechselt werden, die von den Carotinen ganz verschieden sind. Von Pilzen, die durch Carotine gefärbt sind, seien noch genannt: Peziza bicolor, Ascobolus pulcherrimus, Dacryomyces stillatus, Polystigma rubrum, Nectria cinnabarina usw.

Bacteriopurpurin.

Die Purpurbakterien haben bekanntlich ihren Namen von ihrer roten Farbe: purpurn, pfirsichblührot, karminrot, violett, rosa, weinrot, braunrot usw. — MOLISCH (1) hat gezeigt, daß sich aus den von ihm untersuchten Purpurbakterien zwei Farbstoffe gewinnen lassen: ein grüner, das Bakteriochlorin und ein roter, das Bakteriopurpurin. Beide sind durch sehr charakteristische Spektren ausgezeichnet; der grüne ist verschieden von Chlorophyll und der rote, der sehr leicht in kristallisierter Form gewonnen werden kann, ist wahrscheinlich ein carotinartiger Körper.

Nachweis.

Man kann sich auch mikrochemisch von der Anwesenheit der beiden Farbstoffe überzeugen. Man bringt zu diesem Zwecke eine große Flocke oder den Bodensatz einer Reinkultur von Rhodobacillus palustris auf einen Objektträger, läßt eintrocknen, bedeckt mit einem Deckglas und füllt dann vom Rande aus den zwischen Objektträger und Deckglas befindlichen Raum mit absolutem Alkohol aus. Es ist zweckmäßig, das Deckglas einseitig durch ein Glaskapillarröhrchen zu stützen; der Flüssigkeitsraum wird hierdurch keilförmig, und der Farbstoff wird beim Verdampfen des Lösungsmittels gegen die Schmalseite des Raumes gedrängt, so daß er sich vorzugsweise an einer Kante des Deckglasrandes anhäuft. Bei Anwendung von absolutem Alkohol scheidet sich am Deckglasrande das Bakteriochlorin in grünen Tropfen aus, daneben kann sich auch etwas Bakteriopurpurin in Form von Tröpfchen oder kleinen roten Kriställchen absondern. Verwendet man aber anstatt Alkohol Chloroform, so treten fast nur rote Tröpfchen auf, die beim Verdampfen oft hunderte von roten Kristallen oder Kristallaggregaten des Bakteriopurpurins liefern (Fig. 70). Von dem grünen Farbstoff erscheint nur wenig oder gar nichts. Bei diesen Prozeduren erleidet die Bakterienmasse eine Verfärbung. Die rote Farbe verschwindet und die Bakterienmasse nimmt dabei vorübergehend (unterm Mikroskop betrachtet) eine sehr helle, schmutzig-bläulichgrüne oder eine schmutzig-braune Farbe an. Die Bakteriopurpurinkristalle sind meistens nadel-, spindelförmig, an beiden Enden zugespitzt und ziemlich flach. Auch stern- oder baumartig verzweigte Aggregate kommen vor. Ihre Farbe ist lachs- bis bräunlich-rot. Sie sind unlöslich in Wasser und Glyzerin, schwer löslich in kaltem, absolutem Alkohol, hingegen leicht löslich in Chloroform, Schwefelkohlenstoff und Äther. Mit reiner Schwefelsäure nehmen sie eine tiefblauviolette bis indigblaue Farbe an so wie Carotinkristalle. Vorübergehend blau färben sie sich auch mit Salpetersäure, mit Jodjodkaliumlösung schmutziggrün. Alle diese Reaktionen sprechen dafür, daß man es in dem roten Farbstoff der Purpurbakterien mit einem carotinartigen Körper zu tun hat (Molisch I, 80).

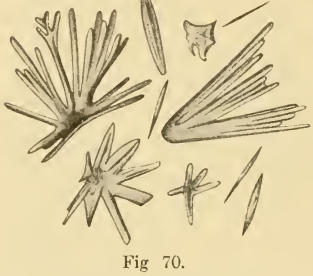


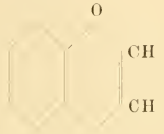
Fig 70.
Bacteriopurpurinkristalle aus Chloroformlösung von Rhodospirillum. Vergr. 250.

Die mikroskopische Beobachtung läßt erkennen, daß der Farbstoff nicht, wie das früher angenommen wurde (Bütschli) auf eine Rindenschicht des Zellinhalts beschränkt ist, sondern daß er den ganzen Zellinhalt durchsetzt.

3. Gelbe und rote Farbstoffe der Phanerogamen aus der Xanthon-Flavon- und Anthracengruppe.

a) Xanthon- und Flavonderivate.

Diese Verbindungen, die zumeist gelbe Farbstoffe darstellen, leiten sich von einer Muttersubstanz, dem Chromon, ab, in dem der Pyronring mit einem Benzolring kombiniert ist.



Die Xanthonabkömmlinge sind im Pflanzenreiche ziemlich selten, im Gegensatz zu den sehr verbreiteten Flavonderivaten, die in der Pflanze gewöhnlich glykosidischer Natur sind und häufig an Rhamnose gebunden erscheinen. Zu den Xanthonderivaten gehören die Euxanthinsäure, das Gentisin, Datiscin und vielleicht auch Rhamnocitrin. Zu den natürlichen Flavonderivaten, die alle phenolartigen Charakter haben, gehören das Rhamnetin, Xanthorhamnin, das ungemein weit verbreitete Quercetin, Rutin, Chrysin, Luteolin, Skutellarin, Fisetin, Morin, Hämatoxylin, Brasilin und andere. Da für viele dieser Farbstoffe Methoden zum mikrochemischen Nachweis noch nicht ausgearbeitet worden sind, so können nur einige wenige behandelt werden.

Xanthonderivate.

Gentisin, $C_{14}H_{10}O_5$.

Eigenschaften und Nachweis. Bildet lange blaßgelbe Nadeln oder Prismen. In Wasser unlöslich, schwer löslich in heißem Alkohol und Äther, leicht in Anilin, in Alkalien mit goldgelber Farbe. Tunmann (III, 155) zeigte, daß man das Gentisin aus der Wurzel von Gentiana lutea L. leicht sublimieren und diese Methode des Nachweises zur Erkennung der Enzianwurzel und zur Unterscheidung von Verfälschungen benutzen kann. Es entstehen bei der Sublimation zunächst kleine, stumpfe Prismen, dann mehr oder minder lange, gerade oder gebogene Nadeln, von denen nur die stärksten schwach-gelblich erscheinen. Sie zeigen die erwähnten Eigenschaften chemisch reinen Gentisins. Folgende drei Reaktionen werden noch empfohlen:

1. Das mit dem Deckglas bedeckte Sublimat wird mit alkoholischer Kali- oder Natronlauge (1 v. H.) versetzt; die darauf entstehende dunkelgelbe Lösung wird durch Eindunsten etwas eingeengt und mit Äther versetzt. Nach 1 Stunde scheidet sich die Alkaliverbindung in tiefgelben Nadeln und Prismen aus.

2. Eine diagnostisch brauchbare Nitroverbindung läßt sich leicht gewinnen, wenn man das Sublimat mit je einem kleinen Tropfen Schwefelsäure und Salpetersäure versetzt und nach dem Auflegen des Deckglases bis zur Blasenentwicklung erwärmt. Dann bilden sich kleine „ölige Tropfen", die sich bald in tiefgrüne bis blaugrüne, 5—20 μ breite Sphärite und Drusen umwandeln. Später treten überdies

Drusen von Dinitrogentisin in chromgelber Farbe auf, was bei den aus der Droge gewonnenen Sublimaten fast ausschließlich der Fall ist.

3. Durch Versetzen von Gentisin mit einem Tropfen Brom-Essigsäure und kurzes Erwärmen erhält man sofort meist gebogene fahlgelbe Nadeln in dendritischen Aggregaten einer noch unbekannten Verbindung des Gentisins.

Vorkommen.

Bis jetzt nur in der Wurzel von Gentiana lutea L. Die in der Literatur verbreitete Angabe, wonach in der Wurzel der Gentianee Frasera carolinensis Gentisin vorkomme, ist unrichtig; wohl aber wurden in dieser Wurzel von TRIMBLE und LLOYD (Amer. Pharm. Rundschau 1891, p. 143) zwei gelbe Farbstoffe gefunden, die beide die Zusammensetzung $C_{16}H_{15}O_6$ haben und sich gut sublimieren lassen. Sie kommen nicht bloß in der Wurzel, sondern in weit größerer Menge im Samen und den Blumenblättern und in geringer Menge auch in den Laubblättern vor.

Gentioluteïn. Hier sei noch ein Körper erwähnt, der, obwohl seine Zusammensetzung noch nicht bekannt ist, einstweilen hierher gestellt werden soll: das von mir bei Gentiana germanica entdeckte Gentioluteïn. Wenn man die Laubblätter nach dem Trocknen der Mikrosublimation aussetzt, so erhält man ein Sublimat von zahlreichen gelben Kristallen. Sie sind nadel-, stern-, zigarren- oder flachsäulenförmig. Daneben kommen auch Kristalle vor, die in Gestalt und Farbe von den beschriebenen abweichen, sonst aber ein ziemlich übereinstimmendes Verhalten aufweisen. Die gelben Kristalle sind unter anderem dadurch ausgezeichnet, daß sie in Chlorkalklösung langsam vorübergehend hell blaugrün werden und sich schließlich lösen. KLEIN (III, p. 12) fand einen ähnlichen Körper auch bei G. austriaca. Beide geben die allgemeinen Flavonreaktionen (s. p. 225).

Das Gentioluteïn kommt im Stengel, in den Blüten und insbesondere in den Laubblättern vor, dagegen fehlt es in den Blättern von Gentiana asclepiadea, ciliata und pneumonanthe (MOLISCH XXII).

Datiscin, $C_{21}H_{24}O_{11} + 2H_2O$,

ist das Glykosid des Datisceins. Es kommt in allen Teilen von Datisca cannabina L., besonders reichlich in der Wurzel vor. Datiscin bildet seidenartige, zu Gruppen vereinigte Nadeln. Aus Wasser kristallisiert es in glänzenden Blättchen. Alkohol, Eisessig und heißes Wasser lösen es leicht, kaltes Wasser und Äther schwer. In Alkalien, alkalischen Erden und Ammoniak löst es sich mit tiefgelber Farbe und wird daraus durch verdünnte Säuren wieder gefällt.

HERRMANN (I, 9) versuchte, das Glykosid mikrochemisch nachzuweisen. Er fand, daß namentlich Kalk- und Barytwasser eine Gelbfärbung in vielen Zellen und Zellmembranen hervorrufen, und daraus schloß er auf die Anwesenheit von Datiscin. So zeigten in der Wurzel die Inhalte zahlreicher Zellen des Rindenparenchyms, des Phloems und der Markstrahlen und die Membranen der Holzzellen die Gelbfärbung, die auf Zusatz von verdünnten Säuren wieder verschwand. Essigsaures Blei oder Zinkchlorür erzeugen in der wässerigen Lösung gelbe Niederschläge, Kupferoxydsalze fällen grünlich und Eisenchlorid dunkelbraungrün. Auch diese Reaktionen treffen nach HERRMANN in den datiscinhaltigen Zellen ein. Nichtsdestoweniger erscheint mir der Nachweis

des Datiscins im Gewebe noch recht unsicher, da die erwähnten Färbungen und Fällungen auch von anderen, in der Pflanze sehr verbreiteten Körpern gegeben werden.

Flavonderivate.

Die Flavone haben die allgemeine Formel

sind chemisch untereinander verwandt und treten in der Pflanze häufig als Glykoside auf. Zahlreiche gelbe natürliche Beizenfarbstoffe, farbstoffe vieler Hölzer, Rinden, Blätter und Blüten gehören hierher. Sie wurden, da sie auch in der Praxis eine große Rolle spielen, bereits seit 60 Jahren unter anderen von Rochleder, Hlasiwetz, Herzig, Kostanecki und Perkin untersucht.

Ein allgemeiner, eindeutiger histochemischer Nachweis fehlte aber bisher und es ist daher ein Verdienst Kleins (III), einen solchen nunmehr erbracht zu haben.

Zu den allgemeinen Eigenschaften der Flavone gehören: die Löslichkeitsverhältnisse, die Bildung charakteristischer Säureverbindungen, der Diazoverbindungen mit Diazobenzolsulfat, der Salze, die nach Behandlung mit Kalium- oder Natriumazetat entstehen, die Fähigkeit als Beizenfarbstoffe mit Metallsalzen gefärbte Niederschläge zu geben und endlich die Eigenschaft auf Fehlingsche Lösung und ammoniakalische Silbernitratlösung reduzierend zu wirken.

Indem nun Klein (III) die leichte Löslichkeit in Alkali mit tief gelber Farbe zur näheren Prüfung der erzielten Kristalle und außerdem die leichte Löslichkeit und Kristallisierbarkeit in Äthyl- und Methylalkohol, eventuell in Verbindung mit Alkali heranzog, konnte er bei einer großen Zahl von Pflanzen Flavone nachweisen. Aber nur allgemein, nicht lokalisiert. Aber auch dieser Mangel konnte überwunden werden, indem er die Halogensäuren, besonders Salzsäure, auf die zu untersuchenden Objekte direkt einwirken ließ: Es scheiden sich, wenn man Halogensäuren auf die flavonhaltigen Gewebestücke im Sublimationsring bei etwa 40° einwirken läßt, die Flavone in schön kristallisierter Form ab. „Auf einen hohlen Objektträger kommen einige Tropfen rauchende Salzsäure, darüber ein 4 bis 6 mm hoher Glasring und auf diesen das Deckglas mit einem Gewebstückchen oder Schnitte. Die fertigen Objektträger kommen in einen Trockenschrank bei 40° C. Höher darf die Temperatur nicht steigen, da die Salzsäure zu schnell abdampft und überdies die Präparate sehr dunkel (braun bis schwarz) werden. Nach $^1/_4$ bis $^1/_2$ h ist die Salzsäure nahezu abgedampft und das Flavon immer kristallisiert." Die Flavone scheiden sich bei dieser Behandlung an Ort und Stelle ab. Wenn die Präparate zu dunkel geworden sind, können sie durch Chloralhydrat-HCl genügend aufgehellt werden.

Die Form und Farbe der Flavonkristalle wechseln je nach der Farbstoffkonzentration und der Reaktionstemperatur. Ist die Temperatur höher, so bilden sich meist Sphärite, ist sie niedriger, meist Nadeln. Findet sich, wie in manchen Blüten, gleichzeitig Karotin vor, so kommt es zu einem schönen Farbengegensatz: das Karotin färbt sich im Salzsäuredampf blau wie mit Schwefelsäure und hebt sich von den gelben Flavonspießen deutlich ab. (Viola, Cheiranthus, Ruta.)

Unter gleichen Verhältnissen entstehen immer dieselben Kristalle, doch sind sie je nach der Art der Halogensäuren verschieden und stets charakteristisch. Die gelben Stiefmütterchen z. B. bilden mit HCl schöne Büschel von gelben Spießen, mit HBr gelbliche feine Dendrite und Büschel von langen Nadeln und mit HJ tiefgelbe Nadelbüschel.

Klein hat mit Hilfe der von ihm ausgearbeiteten Methodik alle bisher in bestimmten Pflanzen bekannten Flavone kristallisiert und von etwa 100 verschiedenen Pflanzen 37 neue flavonhaltige nachweisen können. Ihre weite Verbreitung ist damit erwiesen.

Eine weitere Aufgabe wird es sein, Spezialreaktionen für bestimmte Flavone auszuarbeiten, vorläufig ist dies nur für das Saponarin, das Chrysin der Pappelknospen, das Apiin und Apigenin gelungen. Eine annähernde Bestimmung konnte Klein (III, p. 31—39) mit Eisenchlorid, Bleiazetat, Bariumhydroxyd und der Reduktionsprobe durchführen.

Mit der allgemeinen Methodik konnten histochemisch folgende Flavone nachgewiesen werden: Quercetin, Quercitrin, Rutin, Rhamnetin, Xanthorhamnetin, Isorhamnetin, Myricetin, Fisetin, Apigenin, Apiin, Chrysin, Luteolin, Genistein, Morin, Vitexin, Saponarin, Skoparin, Kämpferol, Robinin, Lotoflavin und Scutellarin.

Aus der Reihe der Flavone seien, abgesehen von dem Flavon des Primelmehlstaubes, das auf p. 126 und 127 behandelt wurde, noch besonders hervorzuheben:

$$\text{Rutin, } C_{27}H_{32}O_{16} + 2H_2O,$$

findet sich in der Gartenraute Ruta graveolens, in den Kappern, den Blütenknospen von Capparis spinosa, in den Blättern von Polygonum fagopyrum, Polygonum convolvulus, Globularia alypum, Eucalyptus macrorhyncha und besonders reichlich in den mit „Waifa“ oder „chinesischen Gelbbeeren in Körnern“ bezeichneten, noch unentwickelten Blütenknospen von Sophora japonica.

Das Rutin ist identisch mit den als Sophorin, Viola-quercitrin, Myrticolorin und Quercetindirhamnosid benannten Stoffen.

Das Rutin kristallisiert aus Wasser in hellgelben Nadeln, ist wenig löslich in kaltem, leicht in heißem Wasser und in Alkohol, unlöslich in Äther, Chloroform, Schwefelkohlenstoff und Benzol. Verwendbar für den mikrochemischen Nachweis ist nach Herrmann (I, 30) sein Verhalten gegen Ammoniak, Alkalien und alkalische Erden. Es gibt mit diesen Körpern intensiv gelbe Lösungen, die sich an der Luft unter Sauerstoffaufnahme braun färben. Auf Grund dieser Reaktion konnte Herrmann bei Ruta Rutin nachweisen, in der Wurzel (Markstrahlen, Bastparenchym und Kambium), im Stengel (Rindenparenchym, Mark), im Blattnerv und im Blütenstiel. Besonders reichlich konnte er es feststellen im Kelchparenchym der Blüten von Sophora japonica. Rutin tritt nach Herrmann immer im Zellinhalt auf, nie in der Membran.

Die geschilderte histochemische Methode Kleins gibt natürlich viel verläßlichere Ergebnisse als dieser erste Versuch Herrmanns, das Rutin direkt in der Pflanze nachzuweisen.

Scutellarin, $C_{21}H_{18}O_{12}$,

wurde von Molisch (II) in Scutellaria altissima L. entdeckt und mikrochemisch verfolgt. Goldschmiedt (I) hat diesen Körper teils allein, teils mit seinem Schüler Zerner makrochemisch genau studiert. Die beiden zuletzt genannten Chemiker haben festgestellt, daß dem Scutellarin die obige Formel zukommt, daß es ein glukosidartiger Körper ist, welcher bei der Hydrolyse das Flavonderivat Scutellareïn $C_9H_{10}O_6$ und Glukuronsäure gibt.

Mikrochemischer Nachweis des Scutellarins nach Molisch.

1. Man bringt frische Blätter für eine Stunde oder mehr in Salzsäuredampf, den man dadurch erzeugt, daß man in einer gut verschließbaren Glasdose konzentrierte, rauchende Salzsäure verdampfen läßt. Nach ein bis mehreren Stunden nimmt man die inzwischen infolge der Zerstörung des Chlorophylls braun gewordenen Blätter heraus und legt kleine Teile derselben für einige Zeit behufs Aufhellung des Gewebes in Chloralhydratlösung (5 Teile Chloralhydrat und 2 Teile Wasser). Die also behandelten Blattstücke enthalten in der Oberhaut zahlreiche, oft konzentrisch geschichtete und radiär gestreifte Sphärite (bis 0,1 mm) von Scutellarin. Sie liegen teils einzeln, teils in Gruppen.

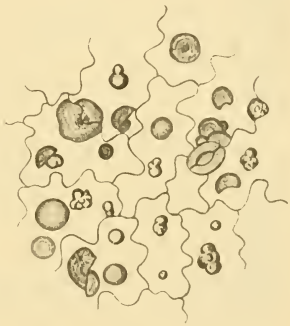


Fig. 71.
Scutellarinsphärite in der Epidermis des Blattes von Scutellaria altissima, nach Behandlung mit 10proz. Salzsäure. Vergr. 300.

Das Scutellarin bzw. die erhaltenen Sphärite sind ausgezeichnet durch ihre leichte Löslichkeit in Ammoniak, Soda, Kalilauge, ferner durch die Gelbfärbung mit Spuren von alkalischen Substanzen (Ammoniak, Kalilauge, Natronlauge, Kalkwasser, Soda, Äthyl- und Trimethylamin). Die trockenen, nur mit wenig Wasser befeuchteten Kristalle werden mit etwas Barytwasser augenblicklich rostrot und kurze Zeit darauf an der Luft dunkelgrün. Durch Brom-, Chlor-, oder Jodwasser entsteht die grüne Farbe nach vorhergehender Behandlung mit Barytwasser sofort.

2. Man legt Schnitte oder Fragmente der zu untersuchenden Organe in etwa 10proz. Salzsäure, worauf schon nach wenigen Minuten oder nach längerer Zeit in der Epidermis Sphärite oder büschel-, bzw. sternartig gruppierte Nadeln auskristallisieren (Fig. 71). Sie zeigen alle die unter 1 angeführten Eigenschaften des Scutellarins. Besonderes Gewicht ist auf die Reaktion mit Barytwasser und die nachherige Einwirkung der Halogene zu legen. Man erzielt die besten Resultate, wenn man die Schnitte, die nach Behandlung mit Salzsäure Scutellarinsphärite gebildet hatten, mit einem Tröpfchen Barytwasser betupft und dann in einer Lösung von Jod in Chloralhydrat legt. Nach Behandlung mit Barytwasser färben sie sich augenblicklich rostrot und in Jod-

chloralhydrat bei gleichzeitiger Aufhellung des Gewebes sodann malachitgrün.

Verteilung des Scutellarins in der Pflanze. Wurzel und Stengel enthalten nur wenig, das Blatt relativ viel. Der Körper erscheint in der Oberhaut, zumal der Blattunterseite, lokalisiert. Auch die Blüte führt besonders im Kelch, in der Krone und dem Gynaeceum viel Scutellarin.

Verbreitung.

Abgesehen von Scutellaria altissima wurde von MOLISCH auch bei Sc. hastaefolia L., S. alpina L., S. laterifolia, S. galericulata L., S. viscida Spreng., S. japonica, ferner bei Galeopsis Tetrahit L. und Teucrium Chamaedrys und von STRECKER (I) auch bei Thymus ein Körper von den angeführten Reaktionen festgestellt. Ob es sich in diesen Arten wirklich um Scutellarin handelt, ist vorläufig, solange noch die Makroanalyse aussteht, nicht sicher, doch immerhin sehr wahrscheinlich. Jedenfalls ist das Scutellarin oder ein diesem sehr nahestehender Körper in der Familie der Labiaten sehr selten, denn STRECKER hat 140 Arten von Labiaten geprüft und ihn nur bei den vier genannten Gattungen konstatiert, außerhalb der Labiaten konnte er ihn, trotzdem er 210 Arten untersucht hat, überhaupt nicht nachweisen.

Hämatoxylin, $C_{16}H_{14}O_6 + 3H_2O$.

Dieses an sich farblose Chromogen ist dem Blauholz, d. h. dem Kernholz von Haematoxylon Campecheanum L. eigentümlich und geht durch Aufnahme von Sauerstoff leicht in das rotbraun gefärbte Hämateïn $C_{16}H_{12}O_6$ über, das auch im Kernholz vorkommt und den eigentlichen Farbstoff des Blauholzes bildet.

Das Hämatoxylin bildet weiße tetragonale Säulen, ist wenig löslich in kaltem, gut löslich in heißem Wasser, in Alkohol und Äther. Löst sich in ätzenden und kohlensauren Alkalien und Ammoniak mit Purpurfarbe auf.

Unter dem Mikroskop erscheinen die Wände aller Zellen und Gefäße des Holzes im durchfallenden Lichte braungelb bis feuerrot. Viele Zellen des Holzparenchyms und der Markstrahlen zeigen ähnlich gefärbten Inhalt. Schnitte färben sich wegen des vorhandenen Hämatoxylins bzw. Hämateïns in Ammoniak purpurn, in Kalilauge und kohlensaurem Ammon tiefblauviolett und in Alaun violett.

Brasilin, $C_{16}H_{14}O_5$,

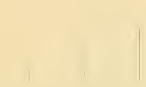
ist der Farbstoff der beiden Kernfarbhölzer von Caesalpinia echinata Lam. (Fernambukholz) und C. Sappan L. Durch Oxydation geht es in das gefärbte Brasileïn $C_{16}H_{12}O_5$ über.

Brasilin scheidet sich aus konzentrierten Lösungen in bernsteingelben Kristallen, aus verdünnten in weißen Nadeln ab. Sie lösen sich in Wasser, Alkohol, Äther, und diese Lösungen färben sich rasch an der Luft. In sehr verdünnter Kali-, Natronlauge und Ammoniak löst es sich mit prachtvoll karminroter Farbe. Schnitte durch das Fernambukholz zeigen unter Wasser die Wände aller Elemente goldgelb bis braungelb, welche Färbung wohl der Hauptmasse nach von Brasilin herrührt. Dieser Stoff bedingt, daß sich Schnitte mit Ammoniak, kohlensaurem Ammon, Kali-, Natronlauge und Kalkwasser prachtvoll karminrot färben, wobei der Farbstoff in Lösung geht. Die Hauptmasse des

Farbstoffes liegt in der Zellwand, doch sieht man auch im Zellinhalte verschiedener Elemente Farbstoffballen. Ob der Farbstoff zuerst im Inhalt gebildet wird und von hier erst in die Membran einwandert, oder ob er in der Zellhaut selbst entsteht oder sowohl im Inhalt wie in der Membran, ist unbekannt und wäre für Farbhölzer überhaupt zu untersuchen.

Anthracenderivate.

Bei Polygoneen, Rubiaceen, Rhamnaceen, Leguminosen, ja auch bei Flechten finden sich gelbe und rote Farbstoffe, die sich vom Anthracen ableiten. Und zwar entweder direkt von dem Kohlenwasserstoff Anthracen, $C_{14}H_{10}$ oder von seinem symmetrischen Diketon, dem Anthrachinon:



Hierher gehören: Chrysophansäure, Emodin, Rheïn, Aloëemodin, Aloin, Morindin, Ruberythrinsäure, Rubiadin, Alkannin und andere.

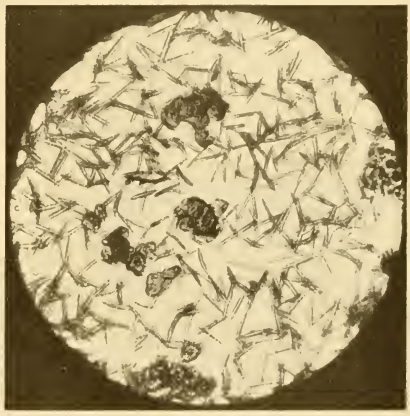


Fig. 72.
Kristalle und Schollen eines Anthracenderivats, gewonnen durch Sublimation aus der Rhabarberwurzel, Rheum Rhaponticum L. Vergr. 50.

Chrysophansäure = Methyldioxyanthrachinon, $C_{15}H_{10}O_4$.

Goldgelbe Blättchen, unlöslich in kaltem Wasser, löslich in Alkohol, Äther, Aceton, Benzol und Chloroform. In Alkalihydraten löst es sich mit kirschroter Farbe, ebenso in Ammoniak nach längerer Zeit. Konzentrierte Schwefelsäure löst Chrysophansäure gleichfalls mit kirschroter Farbe.

Vorkommen.

Im Rhizom von Rheum- und Rumex-Arten, in Cassia-(Sennah)-Blättern des Handels und zwar der Hauptmasse in glykosidischer Bindung als Chrysophan neben etwas freier Chrysophansäure.

Emodin, $C_{15}H_{10}O_5$ = Trioxymethylanthrachinon.

Rotorangefarbige Nadeln von Seidenglanz, löslich in Alkohol und Eisessig, schwer löslich in Benzol im Gegensatz zur Chrysophansäure. Mit Alkalien und konzentrierter Schwefelsäure gibt es ähnliche Färbungen wie Chrysophansäure.

Mitlacher (I) hat die Eigenschaft der Anthrachinone, leicht zu sublimieren, benutzt, um diese Körper in Emodindrogen mikrochemisch durch Sublimation nachzuweisen. — Eine kleine Menge des Pulvers von Cortex Frangulae wird in ein Uhrgläschen gelegt, mit einem Objektträger bedeckt und der Erwärmung über dem Mikrobrenner ausgesetzt. Nach etwa 10 Minuten bemerkt man das Auftreten eines gelblichen Beschlages, der aus doppeltbrechenden Kristallen von sattgelber bis rötlichbrauner Farbe besteht. Die Kristalle bestehen aus Nadeln, aus bis 1 mm langen Spießen, gewöhnlich sternförmig, bandförmig oder dendritisch gruppiert oder aus Schollen. Je nach der angewendeten Temperatur erhielt ich oft sehr verschiedene Kristalle. Bei relativ niederer Temperatur besteht das ganze Sublimat nicht aus Nadeln, sondern aus Blättchen von vier- oder sechseckigem Umriß (Fig. 73). Falls die Sublimation keine schönen Kristalle aufweist, empfiehlt es sich, noch einmal zu sublimieren, indem man einen zweiten Objektträger über den ersten derart legt, daß beide durch ein am

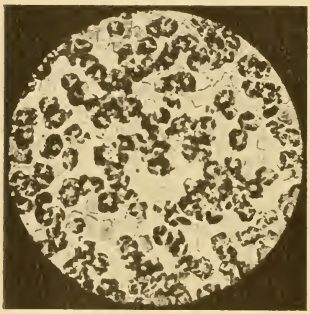


Fig. 73.
Dasselbe wie in Fig. 72. Die Kristalle haben aber die Gestalt vier- oder sechseckiger Blättchen. Vergr. 180.

Fig. 74.
Dasselbe wie in Fig. 72. Die Kristalle bilden sich an Baumwollfasern in anderer Form aus und werden bedeutend größer. Vergr. 80.

Rand dazwischen geschobenes Stückchen Glas etwas auseinander gehalten werden, und dann von neuem erwärmt. Besonders große Kristalle kann man nach meinen Erfahrungen erhalten, wenn man auf dem bei der Sublimation verwendeten oberen Objektträger einige Baumwollfäden befestigt. Auf diesen setzen sich die Kristalle mit Vorliebe fest und wachsen dann zu erstaunlicher Größe heran (Fig. 74). Die Kristalle und kristallinischen Schollen lösen sich auf Zusatz von alkoholischer Kalilauge mit prachtvoll kirschroter Farbe auf, auch wässerige Kalilauge färbt rot, wobei die Kristalle unter Zerfall sich langsam lösen. Die Kristalle lösen sich in Alkohol, Äther, Chloroform, Benzol, Toluol und Eisessig. — Das Sublimat von Radix Rhei verhält sich ähnlich und liefert ausgezeichnet kristallisierte Sublimate, nach meinen Erfahrungen viel schöner als Rhamnus (Fig. 72, 73, 74). Weniger deutliche Kristalle

erhielt Mitlacher mit der Rinde von Rhamnus Purshiana und den Sennahblättern, doch geben ihre Sublimate stets die charakteristischen Reaktionen der Oxymethylanthrachinone.

Wasicky (I) hat die interessante Beobachtung gemacht, daß in der Rhabarberpflanze mindestens zwei Enzyme vorkommen, ein Oxydation bewirkendes und die Anthraglykosidase. Die letztere spaltet die Anthraglykoside, wobei in Rheum- und Canaigre-Glyzerinpräparaten (Wurzelknollen von Rumex hymenosepalus) reichlich schöne Kristalle (Sterne brauner, gebogener, sehr feiner Nadeln) der in Freiheit gesetzten Anthrachinone auftreten.

Vorkommen.

Im Rhizom von Rheum-Arten, in der Rinde von Rhamnus Frangula (als Glykosid), R. Purshiana, in den Früchten von Rhamnus cathartica (Tschirch und Polacco (I) und R. japonica. Auch bei Leguminosen ist Emodin mehrfach festgestellt worden, z. B. im Samen von Cassia-Arten, in den Sennahblättern, wo es nach Tschirch und Hiepe (II) vielleicht als Glykosid auftritt, und in anderen.

Rheïn, $C_{15}H_8O_6$,

stellt orangerote Nadeln dar, die schwer löslich in Alkohol, Aceton, Eisessig, Äther und Benzol sind. Gegenüber Ammoniak und konzentrierter Schwefelsäure verhält es sich ähnlich wie die beiden früheren Chinone. Es findet sich im chinesischen Rhabarber und wurde von Oesterle (I) auch aus der Aloë durch Oxydation des Aloëemodins gewonnen.

Behandelt man Schnitte durch das Rhabarberrhizom mit wässerigen Lösungen von Alkalien oder mit konzentrierter Schwefelsäure, so nimmt der gelbe oder braunrote Inhalt der Markstrahlzellen eine purpurne oder rotviolette Färbung an, die sicherlich von den Anthracenderivaten herrührt. In der Literatur wird gewöhnlich gesagt, diese Reaktion rühre von Chrysophansäure (Borščow I, 21), (Herrmann I, 35) oder von Emodin her, allein dies geht zu weit, denn in der Wurzel des Rhabarbers — und dasselbe gilt auch von anderen Polygoneen — kommen verschiedene Chinone mit ähnlichem oder gleichem Verhalten gegenüber Ammoniak, Alkalien und Schwefelsäure vor und daher kann man, falls die erwähnten Farbenreaktionen eintreten, nicht auf ein bestimmtes Chinon, sondern nur auf Anthrachinone überhaupt schließen. Diese haben namentlich in der Familie der Polygoneen, und zwar in der Wurzel eine weite Verbreitung.

Aloin.

Die Formel dieses Anthracenderivats ist noch nicht ganz sicher; nach Léger und Tschirch schreibt man dem aus der Kapaloë dargestellten Aloin die Formel $C_{16}H_{16}O_7$ zu. Blaßschwefelgelbe, prismatische Nadeln (aus Alkohol). Im kalten Wasser und Alkohol wenig löslich, leichter in der Wärme. In ätzenden und kohlensauren Alkalien leicht mit orangegelber Farbe löslich, an der Luft durch Sauerstoffabsorption nachdunkelnd.

Schneidet man ein Blatt von Aloë, z. B. von Aloë soccotrina DC., in der Mitte quer durch, so kann man auf dem Querschnitt unter der Oberhaut eine mehrzellige Schicht von chlorophyllreichem Parenchym,

daran stoßend einen Kranz von Gefäßbündeln und gegen das Innere des Blattes zu ein den größten Teil des Blattes ausmachendes Wassergewebe beobachten (Fig. 75 *a*). Das Gefäßbündel (Fig. 75 *c*) besteht aus einem Holz- (*x*) und einem Bastteil (*p*), und der letztere ist gegen die Oberhaut zu von einer Gruppe weitlumiger Zellen umsäumt. die die sogenannte Aloë der Pharmakopoe liefern. Es sind die Aloë-(Aloin-)Zellen (Fig. 75 *C*, *a* und *B*).

Der Saft der Aloëzellen ist meist in verschiedenem Grade gelb gefärbt, selten weißlich. Genaueres darüber siehe Molisch (III).

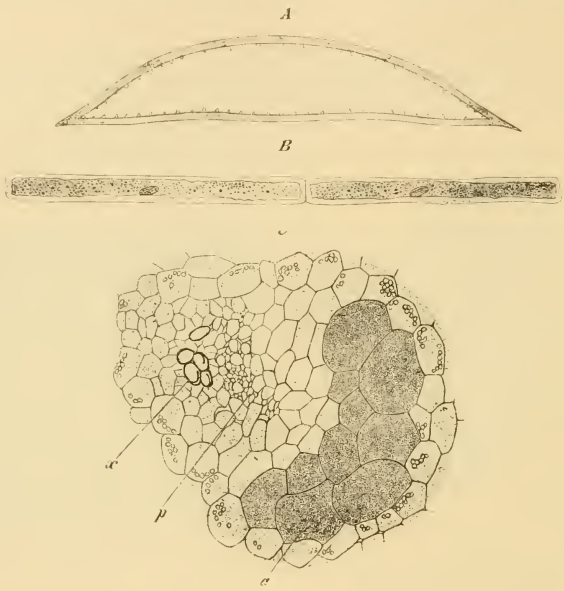


Fig. 75.

A Querschnitt durch das Blatt von Aloë soccotrina DC. Lupenbild. Vergr. 2. Die dunkle Randpartie ist Epidermis und grünes Mesophyll, die helle Mittelpartie ist chlorophylloses Parenchym. An der Grenze beider Partien ein Kranz von Gefäßbündeln. *B* zwei Aloëzellen mit Kern von Aloë saponaria Haw. Vergr. etwa 30. *C* ein Gefäßbündelquerschnitt von Aloë soccotrina DC., etwa 65mal vergrößert. *x* Xylem, *p* Phloem-, *a* Aloinzellen.

Verschiedene Aloësorten des Handels ergeben bei der Analyse als charakteristischen Bestandteil mehrere Aloine, die einander nahestehen (Barbaloin, Nataloin, Socaloin). Nach den Untersuchungen von Tschirch, Pedersen (I) und Oesterle (I) besteht eine nahe Verwandtschaft zwischen Aloin und Emodin, da sich Aloin in Emodin leicht überführen läßt.

Nachweis.

Bei manchen Aloë-Arten gelingt es nach Molisch (III, 108) einfach dadurch, daß man den frischen Safttropfen, der aus dem quer

durchschnittenen Blatte entquillt, auf dem Objektträger mit einem Deckglas bedeckt und ein bis mehrere Tage frei liegen läßt, das Aloin zum Auskristallisieren zu bringen. Gewöhnlich schon nach 1—2 Tagen schießen zunächst am Rande des Deckglases die ersten strahligen Sphärite an (Fig. 76). Sie sind von gelber Farbe, zeigen das Verhalten des Aloins und können nach und nach einen Durchmesser von über 2 mm erreichen. Daneben können auch Nadeln und Nadelbüschel derselben Verbindung entstehen. Die Beimischung von etwas Glyzerin zu dem Safttropfen erwies sich nicht selten als vorteilhaft für das Auskristallisieren des Aloins. Es entstehen dann nach ein bis mehreren Tagen unter Deckglas zahlreiche Kristalle von verschiedener Form: dreieckige bis beilartige Einzelkristalle und Rosetten aus Prismen, sowie unregelmäßige Drusen. So fand Molisch die Verhältnisse bei Aloë soccotrina DC.; strahlige Sphärite fand er, allerdings nicht immer bei A. ferox und A. barbadensis Mill. Hingegen konnte er in der angegebenen Weise keine Aloinsphärite erhalten bei Aloë saponaria Haw., A. vulgaris Lam., A. paniculata Jacqu., A. elegans Tod., A. picta Thunb. und A. latifolia Haw.

Die Sphärite sind in Wasser langsam, in Äther sehr langsam und in Alkohol ziemlich rasch löslich. In konzentrierter Salpetersäure lösen sie sich sofort mit tiefroter Farbe, Bromdämpfe färben die befeuchteten Kristalle tief kirschrot. In Kalilauge und Ammoniak geben sie eine braungelbe Lösung, die sich bei Luftzutritt rot färbt.

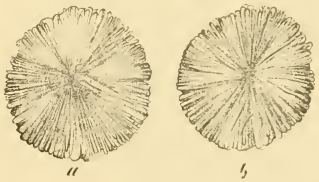


Fig. 76.
Aloinsphärite *a* und *b* von Aloë soccotrina. Direkt durch langsames Verdunsten unter dem Deckglas gewonnen. Sehr schwache Vergr.

Mit Hilfe dieser Farbenreaktionen, die auch rein dargestelltes Aloin — ob sich alle Aloine gleich verhalten, wurde nicht geprüft — zeigt, gelingt es, das Aloin auch bei solchen Arten in den Aloinzellen nachzuweisen, deren Saft direkt keine Aloinkristalle gibt.

Am besten bewährte sich hierbei die Reaktion mit Salpetersäure und in zweiter Linie die mit Brom. Beide Körper wurden am zweckmäßigsten in Dampfform angewendet. Man lege den auf den Objektträger liegenden Safttropfen oder den frischen Blattquerschnitt über den Hals einer Salpetersäure- oder Bromflasche. Ist Aloin in nachweisbaren Mengen vorhanden, so tritt schon nach kurzer Zeit eine karmin- bis himbeerrote Färbung ein, die sich bei der Wegnahme des Präparates an der Luft häufig noch verstärkt und bei Zufuhr von konzentrierter Schwefelsäure bei größeren Mengen von Aloin in Blau umschlägt. Eine zu lange Einwirkung der Dämpfe ist zu vermeiden, da dann der gebildete Farbstoff wieder zerstört wird. Die Reaktion tritt immer zuerst in den Aloinzellen ein, weil das Aloin in diesen lokalisiert ist und in den übrigen Zellen des Blattes nicht oder vielleicht nur in Spuren vorhanden ist. Sowie der Aloësaft sich aus den Aloëzellen in die Umgebung ergießt, tritt die Reaktion natürlich auch in dieser auf.

Nach dem angegebenen Verfahren erhielt Molisch die Rotfärbung mit Salpetersäure und zumeist auch mit Brom bei Aloë obscura,

A. picta Thunb., A. abyssinica Lam., A. paniculata Jacqu., A. barbadensis Mill., A. maculata, A. africana Mill. und A. soccotrina DC. Negativ fiel die Probe aus bei A. elegans Tod., A. arborea und A. Schimperi Tod.

Es sei nochmals darauf hingewiesen, daß die angeführten Reaktionen nicht den Schluß auf ein bestimmtes Aloin erlauben, da es ja mehrere, nicht ganz übereinstimmende Aloine gibt, und wenn mit Alkalien Rotfärbungen eintreten, so ist zu bedenken, daß Aloin leicht Emodin abspaltet (TSCHIRCH, PEDERSEN), von Emodin fast stets begleitet wird und daß daher das Emodin an der Reaktion mit Alkalien auch beteiligt sein kann. Jedenfalls wird durch den geschilderten Nachweis die Gegenwart von ein oder mehreren Anthracenderivaten angezeigt.

Aloë soccotrina zeichnet sich vor allen anderen Arten durch die außerordentlich intensive Reaktion aus. Bei dieser Gelegenheit sei auf die bekannte Tatsache hingewiesen, daß der Saft gewisser Aloëarten die Eigentümlichkeit hat, sich an der Luft zu röten. Verwundete Stellen der Blätter, absterbende Organe färben sich gleichfalls rot. Eine geradezu prachtvolle karminrote Lösung erhält man nach MOLISCH (III, 110), wenn man ein Blattstück von A. soccotrina DC. durch mehrstündiges Verweilenlassen in Chloroformdampf zum Absterben bringt und dann in Wasser legt. Der aus dem quer durchschnittenen Blatt fließende gelbe Aloësaft bleibt, wenn er rasch eintrocknet oder in wasserreichem Zustande von Luft abgesperrt wird, gelb, hingegen wird er, vor Wasserabgabe geschützt, an der Luft rot. Im Saft vorhandene Vakuolen zeigen die Rotfärbung häufig zuerst.

Ob die spontane Rötung des Saftes an der Luft von einem besonderen Chromogen ausgeht oder vom Aloin, wie PROLLIUS (I) meint, bedarf der näheren Untersuchung. Würde das letztere zutreffen, so müßte das Aloin von A. soccotrina jedenfalls als verschieden von den Aloinen sich nicht rötender Arten angenommen werden. A. africana verhält sich bezüglich der Rötung ähnlich wie A. soccotrina, nur in viel schwächerem Grade.

Morindin, $C_{27}H_{30}O_{15} + H_2O$.

In den Wurzeln mehrerer Morinda-Arten, insbesondere der M. citrifolia L., M. tinctoria Roxb., M. bracteata Roxb., M. angustifolia Roxb. und anderer, die in ihren tropischen Heimatsländern heute noch als Färbemittel benutzt werden, findet sich das größtenteils aus M. citrifolia und M. tinctoria dargestellte Pigment Morindin, welches glykosidischer Natur und in Zucker und ein anderes Pigment, das Morindon, spaltbar ist. Nach OESTERLE und TISZA (III) enthält die Wurzelrinde von M. citrifolia außerdem noch Trioxymethylanthrachinonmonomethyläther $C_{16}H_{12}O_5$, Morindadiol $C_5H_{10}O_4$ und Soranjidiol $C_{15}H_{10}O_4$. Die beiden letzteren sind Dioxymethylanthrachinone.

Eigenschaften.

Morindin bildet aus Alkohol feine hellgelbe Nadeln, ist unlöslich in Äther, Chloroform, Benzol und Petroläther, sehr leicht löslich in Aceton, Eisessig, weniger leicht löslich in verdünntem und noch weniger in absolutem Alkohol. In konzentrierter Schwefelsäure löst sich Morindin mit purpurroter, in Alkalien mit roter Farbe.

Morindon scheidet sich aus Alkohol in Form eines feinen rotbraunen, metallisch-bronzeähnlich glänzenden Kristallpulvers aus. Aus Toluol kristallisiert es in kurzen derben Nadeln von zinnoberroter Farbe, bei der Sublimation in orangeroten Nadeln. Es ist in Alkohol, Äther, Benzol, Xylol, Toluol und Eisessig leicht löslich, unlöslich in Wasser. In Alkalien und konzentrierter Schwefelsäure löst es sich mit blauvioletter Farbe.

Mikrochemischer Nachweis.

Tunmann (1) versuchte die von Oesterle und Tisza isolierten Substanzen in Holz und Rinde von Morinda citrifolia mikrochemisch nachzuweisen. Man findet im Parenchym, in den Markstrahlen, im Rindenparenchym überall Ballen und Schollen einer gelbbraunen Substanz, die mit Schwefelsäure und Alkalien dunkelrote Färbungen geben. Nach Tunmann findet sich das Morindin vorzugsweise, wenn nicht ausschließlich, in den Markstrahlen, Soranjidiol in einzelnen Zellen des Phloemparenchyms und neben Morindin im Steinkork; Morindin auch in den Siebröhren. Ob man tatsächlich auf Grund der Farbenreaktionen und der Löslichkeit den Sitz der genannten Substanzen wirklich im Gewebe so scharf unterscheiden kann, erscheint einer Nachprüfung wert.

Fig. 77.
Morindinkristalle aus der Wurzel von Morinda citrifolia L., gewonnen durch Sublimation. Vergr. 90.

Tunmann bemerkt, daß er mit gepulvertem Holz ein geringes unkristallisiertes und mit der Wurzel von Morinda citrifolia ein Sublimat mit einzeln liegenden Nadeln erhalten hat. Die von mir geprüfte Wurzeldroge derselben Pflanze gab geradezu ausgezeichnete, bräunlich-gelbe oder orangerote Sublimate von Kristallen: Nadeln, Spieße, Späne mit ausgezackten Enden, entweder einzeln oder in mannigfachen Aggregaten (Fig. 77).

Die sublimierten Kristalle lösen sich in Schwefelsäure mit roter, in Alkalien mit blauvioletter Farbe und bestehen sicher aus Anthrachinonen, wahrscheinlich aus einem Gemisch von Morindin und Morindon und vielleicht noch anderen.

Ruberythrinsäure, $C_{26}H_{28}O_{14}$.

Die unterirdischen Teile (Wurzeln und Ausläufer) gewisser Rubiaceen, namentlich der Färberröte Rubia tinctorum L. und R. peregrina L., enthalten Farbstoffe der Anthracenreihe. Die Krappfarbstoffe kommen in der lebenden Pflanze in glykosidischer Bindung vor, so die Ruberythrinsäure und das Rubiadinglykosid. Den wichtigsten Bestandteil der unterirdischen Teile der Rubia tinctorum bildet das Glykosid Ruberythrinsäure, das unter dem Einfluß eines in der Wurzel enthaltenen Enzyms, des Erythrozyms (Rubiase) postmortal oder beim Kochen mit verdünnten Säuren in Zucker und Alizarin nach der Gleichung gespalten wird:

$$C_{26}H_{28}O_{14} + 2H_2O = 2C_6H_{12}O_6 + C_{14}H_8O_4.$$

In der abgestorbenen Wurzel (inkl. Rhizom) findet sich neben Alizarin auch Purpurin, das aus einem noch nicht genau bekannten Glykosid entsteht, und andere Farbstoffe der Anthracenreihe.

Decaisne (I) hat seinerzeit seine Untersuchungen über die Krapppflanze Rubia tinctorum, und zwar über ihre Anatomie, über das Auftreten des Farbstoffes, ihre Kultur und die Bereitung der Krappfarbstoffe mitgeteilt. Eine Zusammenfassung unserer Kenntnisse nach der technisch mikroskopischen Seite geben Wiesner (I) und Vogl (I, 538) und nach der chemischen Seite Czapek (I), Rupe und Altenburg (I). Über das Vorkommen und den mikrochemischen Nachweis des Krappfarbstoffes habe ich die folgenden Erfahrungen gemacht.

Die Ruberythrinsäure findet sich im lebenden Rhizom in den Parenchymzellen der Rinde, des Markes, des Holzes und in geringer Menge auch in den Kambiumzellen vor. In der Wurzel führt es haupt-

Fig. 78.
Ruberythrinsäurekristalle im Wurzelrindenparenchym von Rubia tinctorum, entstanden nach Behandlung mit abs. Alkohol. Vergr. 325.

Fig. 79.
Ruberythrinkristalle, gewonnen durch Sublimation aus der Wurzel von Rubia tinctorum. Vergr. 70.

sächlich das Rindenparenchym. Eine frische Schnittfläche des Rhizoms erscheint infolge des Farbstoffes gelborange. Die lebende Zelle enthält nur gelben Farbstoff, das Auftreten von rotem muß als ein Zeichen des eintretenden oder eingetretenen Todes angesehen werden. Der Farbstoff gehört in der lebenden Zelle nur dem Zellinhalt an. Man kann sich leicht davon überzeugen, wenn man durch Zusatz von 10 proz. Kochsalzlösung Plasmolyse einleitet. Es zieht sich dann der Zellinhalt zu einer orangefarbigen Kugel zusammen, während die Zellwand ganz farblos erscheint. Es wird von Nägeli und Schwendener (I, 502) angegeben, daß man in älteren Wurzeln häufig lebenskräftige Zellen beobachte, deren Primordialschlauch sich auf Zusatz von Glyzerin kontrahiere und deren Membran ziemlich intensiv gefärbt sei. Dies kommt meinen Erfahrungen gemäß nur vor, wenn eine lebende Zelle an tote

angrenzt und die Membran der lebenden Zelle den Farbstoff von der toten her aufnimmt.

Mikrochemischer Nachweis.

1. Werden mehrere Schnitte des lebenden Rhizoms auf dem Objektträger mit absolutem Alkohol versehen, mit dem Deckglas bedeckt und stehen gelassen, so entstehen, bevor noch der Alkohol völlig verdampft ist, auf und in dem Gewebe zahllose kleine feuer- oder orangerote Ballen oder sternartige Kristallaggregate des Farbstoffes (Fig. 78). Ähnliche Ausscheidungen erfolgen nach mehreren Stunden zum Teil noch in dem lebenden kontrahierten Zellinhalt auf Zusatz von 10 proz. Kochsalz- oder ebenso konzentrierter Magnesiumsulfatlösung. Doch ist die letztere Methode nicht so präzis wie die mit Alkohol; sie tritt nur ein, wenn die Farbstofflösung sehr konzentriert ist.

2. Schnitte durch die frische Wurzel mit 2% Salzsäure bis zum einmaligen Aufwallen unter Deckglas erwärmt, lassen alsbald zahlreiche orangerote Farbstoffnadeln und nach mehreren Stunden Aggregate von solchen oder orangerote Farbstoffballen erkennen (Alizarin?).

3. Ein auf dem Objektträger haftender Schnitt, einen Augenblick über die Öffnung einer Ammoniakflasche gehalten, färbt sich sofort intensiv krapprot. Kali- und Natronlauge geben ähnliche Färbungen. Auf Zusatz einer Säure, z. B. Salz- oder Essigsäure, wird der ursprüngliche Farbenton wieder hergestellt.

4. Sublimation. Der Krappfarbstoff läßt sich ausgezeichnet sublimieren. Schnitte durch lebende Rhizome geben Sublimate, die aus orangefarbigen Kristallen bestehen: Nadeln, Spießen usw. (Fig. 79).

Die Kristalle lösen sich in Ammoniak und Kalilauge mit violetter Farbe und färben sich mit kohlensaurer Ammonlösung tief violett. Diese Farbenreaktionen der Kristalle, zusammengehalten mit ihrer Schwerlöslichkeit in Wasser, absolutem Alkohol, Äther und Benzol sprechen dafür, daß es sich hier wenigstens der Hauptsache nach um Ruberythrinsäure handelt. Ähnliche Sublimationen geben auch die käuflichen Drogen. Unabhängig von mir hat Tunmann (II) schon früher den Sublimationsnachweis der Ruberythrinsäure erbracht.

Vorkommen.

Abgesehen von Rubia tinctorum und R. peregrina enthalten noch andere Rubia-Arten eigenartige Anthracenderivate. So Rubia sikkimensis Kurz und R. cordifolia L., die das Glykosid Munjistin führen. Anthracenderivate sind aber zweifellos in der Familie der Rubiaceen noch viel weiter verbreitet als man bisher gewußt hat, denn ich habe, als ich ohne besondere Auswahl die mir zugänglichen Rubiaceen aus der Reihe der Stellatae daraufhin prüfte, bei allen in den unterirdischen Organen die Reaktion mit Ammoniak und Alkalien und bei den farbstoffreicheren auch die Reaktion mit Alkohol erhalten. Es waren dies:

Galium Mollugo L.
„ aristatum L.
„ vernum Scop.
„ boreale L.
„ polymorphum Knaf.
„ cruciata Scop.

Asperula odorata L.
„ divaricata Bisch.
„ ciliata Roch.
„ leucanthera Beck.
„ taurina L.
„ tinctoria L.

Sherardia arvensis L.

Crucianella molluginoides L.
„ angustifolia L.

Hingegen erhielt ich in anderen Abteilungen der Rubiaceen die Reaktionen nicht bei

Coffea arabica L.	Cinchona succiruba
Chiococca racemosa L.	Gardenia florida L.
Psychotria emetica Mut.	Pavetta laurifolia Lindl.
Cephaëlis Berii Teijsm. u. Bin.	Spermacoce tenuior L.
	„ laevis L.

Alkannin, $C_{15}H_{14}O_4$,

ist ein roter Farbstoff, der namentlich aus der Wurzel der Alkanna tinctoria Tausch gewonnen wird.

Nachweis.

Das Alkannin ist in ätherischen und fetten Ölen, in Alkohol, Äther, besonders aber in Choroform und Chloralhydrat löslich, in Wasser unlöslich. In Alkalien löst es sich mit tiefblauer Farbe, die beim Ansäuern wieder in rot umschlägt. Es ist amorph und bildet dunkelrote Krusten. Schnitte durch die Handelsware lassen die oben angeführten Eigenschaften leicht erkennen.

Ich konnte Alkannin leicht sublimieren. Das Sublimat besteht aus roten Tröpfchen von den Kennzeichen des Alkannins.

Entstehung und Sitz. Es wird behauptet, daß das Alkannin in den Rindenhöhlungen gebildet wird und auch in den Zellwänden vorkommt. Nach Eriksson (I) entsteht es immer im Zellinhalt und durchdringt nicht die Wände. Schon an der Keimwurzel sind einzelne Epidermiszellen mit den zugehörigen Haaren rot gefärbt. Die roten Zellen häufen sich und beim Übergang des primären Baues der Wurzel in den sekundären erscheint schon die ganze Oberhaut rot. Wird dann ein Teil der primären Rinde mit der Epidermis abgeworfen, so bildet sich nun der Farbstoff in viel größerer Menge in verkorkten Zellen, die aber nicht zum normalen Kork gehören. Die Entstehung des Farbstoffes ist nach Eriksson auch häufig von dem Zerreißen des Wurzelgewebes abhängig, denn überall dort, wo Farbstoff auftritt, ist das Gewebe zerfetzt.

Genauere Angaben über den Sitz und das Auftreten des Alkannins verdanken wir Pulitzer (I). Beobachtungen hauptsächlich an Lithospermum arvense und Echium vulgare haben gezeigt, daß das Alkannin im Zellinhalt der lebenden Oberhautzelle bereits im allerjüngsten Stadium des Keimlings gebildet wird, die Zellhaut durchdringt, wobei es die Interzellularen und Mittellamellen ausfüllen kann und dann auf die Außenseite der Zellhaut tritt.

Die Alkannin-Bildung kann auch künstlich durch Verwundung an bestimmten Stellen hervorgerufen werden. Während das Alkannin gewöhnlich nur in der Epidermis der Wurzel entsteht, kann es in Folge der Verletzung auch im Parenchym der Wurzel und des Hypokotyls auftreten.

Verbreitung.

Das Alkannin oder demselben verwandte Farbstoffe sind nach den Untersuchungen von Vogtherr (I), Holmes (I), Hartwich (I) und Norton (I) in der Familie der Borragineen sehr verbreitet. Vogtherr fand es bei Alkanna syriaca Boiss. et Hch., A. cappadocica Boiss. und Bet., Onosma echioides, Macrotomia

cephalotes DC., Megacaryon orientale (L.) Boiss., Lithospermum arvense L. und L. Erythrorhizon. Norton fand den Farbstoff noch bei Plagiobothrys arizonicus und P. tenellus, wo er in Stamm, Wurzel und Blättern vorkommt, bei Erythricum glomeratum und Krynitznia barbigera enthalten ihn die Blätter reichlich. Nach Hartwich findet sich der rote Farbttoff auch bei Onosma-Arten, Alkanna Mathioli Tausch, Arnebia perennis Tausch, A. tingens DC. und anderen. Nach Pulitzer (I) ist das Alkannin innerhalb der Familie der Borragineen noch viel verbreiteter als man bisher anzunehmen geneigt war. Es wurden von ihr im ganzen 1100 verschiedene Arten des Herbariums geprüft und es konnte dieser Farbstoff bei etwa 150 Arten, die sich auf die nicht baum- und strauchförmigen Borraginoideen verteilen, nachgewiesen werden.

IV. Indolderivate.

Indol, C_8H_7N,

ist die Muttersubstanz, von der sich unter anderen einige wichtige Farbstoffe, wie Isatin und Indigblau, ableiten. Das Indol kann als eine Kombination eines Benzolringes mit einem Pyrrolring aufgefaßt werden.

Vorkommen.

In den Ausdünstungen der Blüten von Jasminum Sambac, Citrus Aurantium L., C. decumana L., C. japonica, C. Limonum Risso, C. nobilis Laur., C. trifoliata, C. medica L., C. limetta Risso, Coffea liberica, C. robusta. In den Blüten von Visnea Mocanera L. und Murraya exotica L. In einem blühenden Kolben einer Caladium-Art und dem Holze von Celtis reticulosa (G. Zempten). Das Indol wurde von Hesse (I) auch in den Jasminblütenparfüms (Jasminum grandiflorum) des Handels und in der Blütenessenz von Citrus Bigaradia aufgefunden.

Eigenschaften. Große, farblose, glänzende Blättchen. Schmelzpunkt 52°. Leicht flüchtig. Leicht löslich in heißem Wasser, aus dem es sich beim Erkalten zunächst in feinen Tröpfchen, dann in farblosen Blättern abscheidet. Ausgezeichnet löslich in Äther, Alkohol und Kohlenwasserstoffen.

Nachweis.

1. Mit Oxalsäure. Für den mikrochemischen Nachweis empfahl Verschaffelt (I) eine von Gnezda (I) aufgefundene Indolreaktion. Man legt nach Verschaffelt auf den Grund eines Becherglases oder einer Kristallisierschale einen Watte- oder Glaswollebausch, der mit konzentrierter Oxalsäurelösung getränkt ist, darauf ein Deckgläschen und darüber eine frische Blüte von Jasminum Sambac Ait. oder Citrus sp. Nach ½ Stunde nimmt die Watte in der Umgebung der Blüte eine rosa Färbung an, die sich nach und nach verstärkt und in violett übergeht. Andere zweibasische Säuren geben eine ähnliche Färbung, aber nicht so schön wie Oxalsäure. Gnezda hat schon hervorgehoben, daß die Reaktion nicht eindeutig ist, sondern auch von anderen, allerdings sehr nahestehenden Körpern wie Skatol und α-Methylindol hervorgerufen wird. Jedenfalls darf man aus dem Zutreffen der Reaktion auf einen Vertreter der Indolgruppe schließen.

2. Ehrlichsche Reaktion (I). Wenn man eine Indollösung mit dem halben Volum einer 2proz. p-Dimethylaminobenzaldehydlösung in Alkohol versetzt, 10 Minuten schüttelt und dann tropfen-

weise eine 25proz. Salzsäure hinzufügt, so tritt Rotfärbung ein. Sie erscheint noch bei einer Verdünnung von 1:1000000. Tritt die Reaktion erst bei Zugabe von Nitrit ein, so beweist sie nichts, da das Reagens mit Nitrit an und für sich eine schwache Rosafärbung gibt. Das Ehrlichsche Reagens wird gewöhnlich zum Nachweis des von Bakterien erzeugten Indols herangezogen, es kann aber auch dem Nachweis dieser Substanz in Blüten dienen. Man setzt, um Täuschungen mit Phloroglucin, das ebenfalls die Reaktion gibt und vielleicht vorhanden sein könnte, zu vermeiden, mit dem Reagens getränkte Papierstreifen oder Glaswolle Blütenexhalationen aus. Bei Gegenwart von Indol tritt Rotfärbung ein (Weehuizen I). Vgl. auch Baccarini (I).

3. Nitrosoindolreaktion. Sie dient gewöhnlich dazu, um das Indol in Bakterienkulturen, die aus Eiweiß Indol leicht abspalten, nachzuweisen. Eine Indollösung gibt mit Salpetersäure und Natriumnitrit einen roten Niederschlag von Nitrosoindolnitrat oder bei geringen Indolmengen eine rote Färbung. An Stelle der Salpetersäure wird auch Schwefelsäure verwendet. Ist in der zu untersuchenden Probe schon Nitrat vorhanden, so gelingt der Nachweis auch mit Schwefelsäure allein. Bei positivem Ausfall der Probe ist in diesem Falle Indol und Nitrit vorhanden. Man fügt am besten zur Bouillonkultur — sie soll nicht unter 8 Tage alt sein und keinen Zucker enthalten haben — etwa ihr halbes Volum 10proz. Schwefelsäure. Erscheint beim Erwärmen auf 80° direkt eine rosa- oder blaurote Färbung, so ist Nitrit und Indol zugegen, da eben für die Reaktion beide Stoffe notwendig sind. Auf diese Weise läßt sich der Indolnachweis bei Kulturen der Diphtheriebakterien, des Choleravibrio und vieler anderer Vibrionen erbringen, man nennt in bakteriologischen Kreisen deshalb auch diese Probe die „Rote Cholerareaktion“ (Lehmann und Neumann I). Eine große volle Öse einer alten Agarkultur von Vibrio Cholerae enthält genügend Indol, um, in 10 ccm Peptonwasser übertragen, das Gelingen der Indolreaktion zu ermöglichen.

Weehuizen (II) benutzte zum Nachweis des Indols die von Verschaffelt verwendete konzentrierte wässerige Oxalsäurelösung und außerdem eine 1proz. Lösung von Vanillin in einer 1proz. Lösung von Paradimethylaminobenzaldehyd in derselben Mischung. Diese Reagentien wurden in Streifen dünnen Filtrierpapiers aufgenommen und gleichzeitig mit den auf Indol zu prüfenden Blüten, ohne diese mit dem Papier zu berühren, unter eine Glasglocke gebracht. Bei Gegenwart von Indol färbten sich alle drei Papiere rot. Die beiden letzten Lösungen färben sich relativ rasch, die der Oxalsäure langsam, oft erst nach einer Nacht. Trotzdem ist gerade diese Reaktion sehr empfindlich. Auf diese Weise konnte Indol in dem Blütenduft von Murraya exotica, Citrus decumana Murr. und von Caladium-Varietäten nachgewiesen werden. Indol kommt also schon während des Blühens dieser Pflanzen vor.

Indol wurde auch im Blütenduft von Citrus- und Coffea-Arten von Sack (I) und von Baccarini (I) in Blüten von 24 Arten von Phanerogamen und in vegetativen Teilen von Myrtus und Tilia nachgewiesen.

Skatol, C_9H_9N,

bildet aus Ligroin vom Schmelzpunkt 65° C blendend weiße Blättchen. Zeigt einen unangenehmen, an Faeces erinnernden, im Blütenduft aber nicht immer unangenehmen Geruch.

Das Skatol wird durch Bakterien aus Eiweißkörpern erzeugt und findet sich in dem widerlich riechenden Holze von Celtis reticulosa Miq. vor.

Makrochemisch kann man sich von der Anwesenheit des Skatols im Celtis-Holze überzeugen, wenn man 100 g des fein vermahlenen Holzes mit Wasserdampf destilliert und einem kleinen Teile dieses Destillats ein wenig einer 2proz. Lösung des Ehrlichschen Aldehyds und schließlich starke Salzsäure zusetzt. Es entsteht eine violettrote Flüssigkeit, die nach Zusatz von einem Tropfen einer $^1/_2$proz. Natriumnitritlösung dunkelblau wird. Durch diese, von Steensma angegebene Reaktion kann man Skatol leicht von Indol unterscheiden, da Indol hierbei nicht eine blaue, sondern eine rote Färbung gibt.

Mikrochemisch konnte Weehuizen (II, 105) das Skatol im Celtis-Holze nachweisen, indem er dünne Schnitte entweder mit einer ätherischen Lösung (wässerige wirkt nicht) von Pikrinsäure oder mit einer 2proz. Lösung von Glykose in starker Salzsäure behandelte. Werden die Schnitte mit Pikrinsäurelösung auf dem Objektträger wiederholt angefeuchtet, so nehmen die skatolhaltigen Stellen nach dem Verdunsten des Äthers eine rote Farbe an. Werden die Schnitte in der Glykose-Salzsäurelösung kurze Zeit vorsichtig erwärmt, so färben sich die Markstrahlen und das Holzparenchym schön violett. Eben diese Elemente färben sich auch mit ätherischer Pikrinsäure rot. In ihnen ist das Skatol lokalisiert.

Indican, $C_{14}H_{17}O_6N + 3\,H_2O$,

ist in der Regel die Stammsubstanz des Indigblaus oder Indigotins. Dieser blaue Farbstoff findet sich niemals fertig gebildet in der lebenden Pflanze vor, sondern entsteht erst postmortal zumeist aus einem in der Pflanze vorkommenden Glykosid, dem Indican. Dieses ist, wie Beijerinck (I) gezeigt hat, ein Indoxylglykosid. Beim Waid, Isatis tinctoria fand Beijerinck (II) eine andere Stammsubstanz, die kein Indoxylglykosid und auch kein freies Indoxyl, wie er (III) früher dachte, darstellt, sondern eine noch nicht näher bekannte Indoxylverbindung, der er den Namen Isatan gegeben hat. Das Glykosid spaltet sich unter dem Einfluß von verdünnten Mineralsäuren oder eines Fermentes in Indoxyl und Zucker, und das Indoxyl wird durch den Luftsauerstoff schließlich in Indigblau übergeführt.

$$C_{14}H_{17}NO_6 + H_2O = C_8H_7NO + C_6H_{12}O_6.$$

Vorkommen.

In meinen Arbeiten über Indican (Molisch IV, VI), besonders aber in meiner Monographie über Indigo (Molisch V) habe ich eine Übersicht über Indigoblau liefernde Pflanzen gegeben, aus der ich hier das Wichtigste hervorhebe.

Das Glykosid Indican und damit verwandte Indoxylverbindungen sind im Pflanzenreiche nicht sehr verbreitet. Mit Sicherheit können als Indigopflanzen bezeichnet werden: Zahlreiche, aber nicht alle Arten der Gattung Indigofera, Isatis

tinctoria L., I. alpina All., I. lusitanica L., Marsdenia tinctoria R. Br., M. parviflora Decaisne, Polygonum tinctorium L., viele Phajus-Arten, Calanthe veratrifolia R. Br., C. vestita Rchb., Echites religiosa Teijsm. et Binn. (Molisch VI), Crotolaria retusa L., C. Cunninghamii R. Br., C. turgida Loisel., C. incana L. und Wrigthia antidysenterica.

Zu jenen Gewächsen, die nach mehrfachen Angaben Indigo liefern sollen und wahrscheinlich auch liefern, die ich aber wegen Mangel an Material selbst nicht untersuchen konnte, gehören: Asclepias tinctoria Roxb., A. tingens Roxb., Wrigthia tinctoria R. Br., Bignonia sp., Eupatorium indigoferum Pohl, E. tinctorium, Spilanthes tinctorius Lour., Galega tinctoria L., Sophora tinctoria L., Polygala tinctoria Forsk., Polygonum barbatum L., Ruellia comosa Wall., Sericographis Mohintli DC.

Überdies werden irrtümlich einige Pflanzen angeführt, die angeblich Indigo oder einen damit sehr ähnlichen Farbstoff liefern sollen: Mercurialis perennis L.!, Melampyrum arvense L.!, M. cristatum L.!, Polygonum Fagopyrum L.!, Polygala bracteolata, Croton tinctorius L., C. verbascifolius Willd., Phytolacca decandra L.!, P. mexicana Sweet., Monotropa Hypopitys L., Fraxinus excelsior L.!, Coronilla Emerus L.!, und Amorpha fructicosa L.! Davon habe ich die mit einem ! versehenen Arten untersucht, aber aus keiner einzigen in irgendeiner Weise eine Spur Indigoblau gewinnen können.

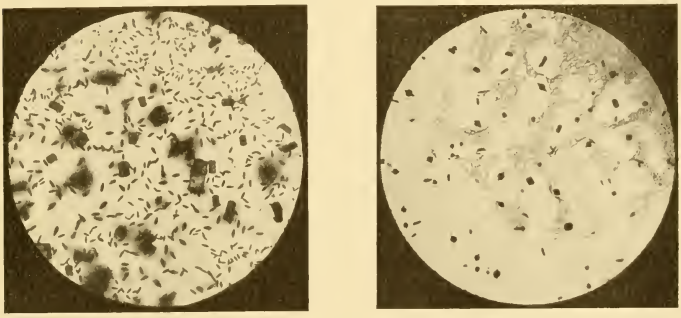
Es sei darauf aufmerksam gemacht, daß es neben den Indigopflanzen tatsächlich Gewächse gibt, in denen postmortal ein blauer oder blaugrüner, von Indigo sehr verschiedener Farbstoff aus einem Chromogen entsteht. Ich habe seinerzeit (Molisch V) vorgeschlagen, solche Pflanzen vorläufig, bevor wir über die Natur dieses Farbstoffes oder dieser Farbstoffe etwas Näheres wissen, als Pseudoindicanpflanzen den Indigopflanzen gegenüberzustellen. So kommt in den Organen der frischen Schuppenwurz Lathraea squamaria L. ein Chromogen vor, das mit verdünnter Salzsäure einen blauen Farbstoff liefert, der aber von Indigo ganz verschieden ist. Einen vielleicht damit verwandten, wenn nicht denselben Farbstoff, Rhinanthocyan, liefern bei gleicher Behandlung im frischen Zustande Rhinanthus Crista galli L., Euphrasia officinalis L., Utricularia vulgaris L., Galium Mollugo L. und Monotropa Hypopitys L. Vgl. auch Nestler (I) und Volkart (I). Weitere Beispiele für Pseudoindikane, die vielleicht mit Rhinanthin zusammenhängen, hat Müller (I) bekannt gemacht. Er hat 374 Blütenpflanzen untersucht und bei ungefähr 74 Arten durch Behandlung mit warmer, 5proz. Salzsäure einen blauen Farbstoff erhalten, der sich wie das Rhinanthocyan durch Amylalkohol ausschütteln läßt.

Blauen Farbstoff liefern nicht bloß die oben erwähnten Scrophularineen, sondern nach Müller auch die Rubiaceen-Gattungen Galium, Asperula, Sherardia, Rubia und Vaillantia.

Ein Pseudoindican findet sich auch in den Cystolithenzellen der Acanthaceen Sanchezia nobilis Hook., Goldfussia anisophylla Nees und Strobilanthes Dyerianus hort., das beim Absterben der Zellen in Berührung mit Luft einen intensiv blaugrünen, von Indigo ganz abweichenden Farbstoff gibt Molisch (VII). Das Chromogen besitzt einen äußerst labilen Charakter, und der Farbstoff verfärbt sich bereits an der Luft und unter dem Einfluß des Zellinhaltes, er wird durch Siedetemperatur, durch Säuren, Alkalien, alkalische Erden und oxydierende Substanzen alsbald zerstört. Durch diese leichte Zersetzlichkeit und

Veränderlichkeit unterscheidet sich dieser Farbstoff wesentlich vom Indigblau, mit dem er wohl keine Verwandtschaft besitzen dürfte.

Eigenschaften des Indigblaus. Auf nassem Wege dargestellt, bildet es ein amorphes blaues Pulver, das beim Reiben den dem Indigo eigentümlichen Kupferglanz aufweist; durch Sublimation erhalten, liefert es purpurfarbige, blättrige, nadel- oder prismenförmige Kristalle, die im durchfallenden Lichte tief dunkelblau erscheinen (Fig. 80). Das Indigblau ist geruch- und geschmacklos, unlöslich in Wasser, Äther, verdünnten Säuren und Alkalien, wenig löslich in heißem Weingeist und Terpentinöl, hingegen relativ leicht löslich in Benzin, Chloroform und Petroleum mit blauer Farbe. Aus heißem Terpentinöl und Anilin erhält man wohlausgebildete blaue Kristalle. Bei vorsichtigem Erhitzen auf 290° verflüchtigt sich das Indigblau in purpurfarbenen Dämpfen, die sich zu charakteristischen, in Fig. 80 abgebildeten Kristallen kon-



a *b*

Fig. 80.

Indigblaukristalle, durch Sublimation gewonnen. *a* aus einem Indigoziegel, *b* direkt aus einem zerriebenen Blattstück von Phajus grandiflorus. Vergr. 180.

densieren. Das Indigblau hat die Eigenschaft, in alkalischer Lösung mit reduzierenden Substanzen farbloses Indigweiß, $C_{16}H_{12}N_2O_2$, zu liefern, das sich in Alkalien leicht löst und bei Luftzutritt wieder zu unlöslichem Indigblau oxydiert. In konzentrierter Schwefelsäure wird es mit schönblauer Farbe unter Bildung von Sulfosäuren gelöst.

Nachweis.

Um rasch zu entscheiden, ob eine Pflanze Indigo liefert, empfahl ich (Molisch IV) folgendes Verfahren: Man kocht etwa ½ Minute Fragmente der Pflanze in der Eprouvette mit verdünntem Ammoniak (98 ccm Wasser und 2 ccm käuflichem Ammoniak), filtriert über einen Platinkonus und schüttelt nach dem Abkühlen mit wenig Chloroform aus. Denselben Versuch vollführt man anstatt mit Ammoniak mit 2proz. Salzsäure. Enthält die Pflanzenprobe Indican, so färbt sich bei einem der beiden oder bei beiden Versuchen die Chloroformschichte blau oder violett, weil das beim Kochen abgespaltene Indigblau von Chloroform leicht aufgenommen wird.

Der Umstand, daß das Indican bei gewissen Pflanzenarten durch Ammoniak gespalten wird, bei anderen z. B. beim Färbeknöterich, Polygonum tinctorium, nicht, spricht dafür, daß das Indican nicht in allen Indigopflanzen identisch sein dürfte (Molisch IV, 271). Wie sehr ich mit dieser Behauptung Recht hatte, geht aus den Untersuchungen Beijerincks hervor, der ja für den Waid eine von Indican verschiedene Muttersubstanz des Indigblaus nachgewiesen hat.

Für den mikrochemischen Nachweis empfiehlt sich folgende Methode: Die Alkohol- und Ammoniakprobe (Molisch IV, VIII). Man bringe die Pflanzenteile in ein zylindrisches, mit gut eingeriebenem Stöpsel verschließbares Glasgefäß von etwa 100 bis 200 ccm Volumen und stelle gleichzeitig auch eine kurze Eprouvette mit absolutem Alkohol oder Ammoniak ein. In dieser Atmosphäre verweilen die Objekte gewöhnlich 24 Stunden. Dünne Pflanzenteile können auch kürzere Zeit darin belassen werden, dickere hingegen (Stengel, Scheinknollen von Phajus usw.) müssen, wenn sie nicht gehörig zerkleinert worden sind, mehr als einen Tag den Dämpfen ausgesetzt bleiben. Falls mit dem längeren Verweilen in dem Alkoholdampf die Gefahr einer Austrocknung verknüpft sein sollte, kann man ihr passend dadurch vorbeugen, daß man die Innenseite des Glasgefäßes mit nassem Filtrierpapier auskleidet.

Während des Verweilens der Pflanzenteile in der Alkoholatmosphäre erleidet das Indican in den Zellen eine Zerlegung, was sich z. B. an den weißen Blüten von Calanthe durch eine intensive Blaufärbung und an grünen Organen, z. B. an den Blättern von Polygonum tinctorium, Calanthe, Phajus und anderen wegen des das Indigblau deckenden Chlorophyllfarbstoffes durch eine entsprechende Verfärbung zu erkennen gibt. Nach der Behandlung mit den erwähnten Dämpfen legt man die Objekte in absolutem Alkohol ein, um das Chlorophyll zu extrahieren. Sobald dieses weggeschafft ist, gibt sich die Verteilung des Indigblaues, besonders auf weißer Unterlage, durch eine mehr oder minder intensive Blaufärbung zu erkennen.

Zum Zwecke der mikroskopischen Untersuchung bettet man Schnitte oder Bruchstücke der in der eben angegebenen Weise behandelten Pflanzenobjekte entweder direkt oder noch besser nach dem Abspülen in reinem Wasser in Chloralhydrat (5 Teile Chloralhydrat auf 2 Teile Wasser) ein, worin die Gewebe sich schön aufhellen und das Indigblau deutlich erkennen lassen.

Diese Methode hat überdies den großen Vorteil, daß man nach der Extraktion des Chlorophylls gewönlich schon mit bloßem Auge die Verteilung des Indigblaus in den verschiedenen Organen oder in der ganzen Pflanze übersieht. So läßt ein nach dem erwähnten Verfahren (Alkoholdampf) behandelter blühender Zweig vom Färbeknöterich die Laubblätter, abgesehen von der Mittelrippe und den Seitennerven, tiefblau, die Ochrea, den Stengel und die Blüten aber in ihrer natürlichen Farbe erscheinen. Es leistet somit diese Methode für den Indicannachweis Analoges wie die sogenannte Sachssche Jodprobe für den Stärkenachweis.

Es muß hervorgehoben werden, daß es durchaus nicht gleichgültig ist, ob man für die Indicanprobe Alkohol, Ammoniak oder Chloroform verwendet, da die verschiedenen Indigo liefernden Pflanzen darauf ver-

schieden reagieren. Daher muß für jede Pflanzenart erprobt werden, womit die Probe ausgeführt werden soll. Bei Phajus und Calanthe z. B. erhält man die besten Resultate mit Alkohol, hingegen bei Isatis (wo als Muttersubstanz des Indigblaus eine Indoxylverbindung vorliegt) nicht mit Alkohol, sondern mit Ammoniak (Molisch VIII, 229).

Das Indigblau läßt sich auch direkt aus dem Blatte heraussublimieren. Es genügt, ein Stück Blatt von Phajus oder Isatis zu verreiben und das Gereibsel der Sublimation auszusetzen. Man erhält dann ein Sublimat, bestehend aus bräunlichen Tröpfchen und zahlreichen tiefblauen Kriställchen: Nadeln, Prismen, Spindeln, T-förmige Gebilde, rechtwinklige Täfelchen mit oft so stark eingebuchteten Kanten, daß sie wie Kreuze erscheinen u. a. (Fig. 80 *b*).

Mikroskopisch läßt sich das Indigblau im Zellinhalt gewöhnlich in Form zahlreicher tiefblauer Körnchen oder Kriställchen erkennen, die, bald zerstreut oder zu kleinen Häufchen angeordnet, herumliegen und die Löslichkeit des Indigblaus erkennen lassen.

Beijerinck (III, 125) hat darauf aufmerksam gemacht, daß bei gewissen Indicanpflanzen, z. B. bei Indigofera, durch die Alkohol- oder Ammoniakprobe nur ein Teil des Indicans in Indigoblau umgewandelt wird. Er erklärt dies so, daß durch den Alkohol oder das Ammoniak nicht nur das Plasma getötet, sondern auch das Enzym zerstört wird, so daß das Indican nicht zerlegt werden kann. Er schlägt daher vor, die Pflanzenteile zuerst der Luft vollständig zu entziehen, sie hierdurch zu töten und dann erst dem Ammoniakdampf auszusetzen. Dieses doppelte Ziel, das Plasma zu töten und das Indoxyl frei zu machen, erreicht man nach Beijerinck durch völliges Untertauchen der Blätter in Quecksilber. Hierbei sterben die Blätter bald ab, Enzym und Indican mischen sich und können aufeinander wirken. Bei günstiger Temperatur ist das Indican nach wenigen Stunden zersetzt, das freigewordene Indoxyl verbleibt im Blatte, und wenn dann die Blätter längere Zeit dem Ammoniakdampf ausgesetzt werden, so bildet sich reichlich Indigblau, das nach Wegschaffung des Chlorophylls mit heißem Alkohol und etwas Salzsäure zur Anschauung kommt. Alte Indigofera-Blätter, die nach der Alkoholprobe behandelt, ganz farblos bleiben, zeigen nach Beijerinck nach dem Quecksilber-Ammoniak-Experiment eine intensive Blaufärbung.

Sitz des Indicans. Das Indican kann bei den verschiedenen Indigopflanzen in verschiedenen Organen und Geweben auftreten, doch liegt seine Hauptmasse wohl in der Regel in den Laubblättern, zumal in den jungen, sich noch entfaltenden. Innerhalb des Laubblattes findet sich das Glykosid gewöhnlich im chlorophyllführenden Mesophyll und in der Oberhaut. Die Wurzel enthält wenig oder kein Indican, Samen und Frucht sind bei den untersuchten Arten frei davon (Molisch IV, 288).

Das Indican wird in der Zelle gewöhnlich durch ein Ferment gespalten und es ist die Frage, ob Indican und Ferment in getrennten Elementen oder in ein und derselben Zelle vorkommt, und wenn das letztere der Fall sein sollte, ob das Indican und Ferment innerhalb der Zelle getrennt lokalisiert erscheinen. Molisch (VIII) hat schon darauf aufmerksam gemacht, daß in Blättern von Phajus und Calanthe, die der Alkoholprobe, und in Blättern von Isatis, die der Ammoniak-

probe unterworfen wurden, es hauptsächlich die Chlorophyllkörner sind, die die Blaufärbung aufweisen. Der Grund konnte ein zweifacher sein. Entweder führen die Chlorophyllkörner das Ferment oder das Indican oder sie enthalten beides. Beijerinck (II, IV) ist nun der Meinung, daß das Plasma das Indican und die Chlorophyllkörner das Ferment führen, und er stützt sich hierbei auf folgende Versuche (a u. b).

a) Ein frischer, nicht zu dünner Querschnitt durch das Blatt einer Indicanpflanze (Phajus grandiflorus) wird in eine siedende Mischung von konzentrierter Salzsäure und Eisenchlorid getaucht. Das Indican wird darin sofort zersetzt und das freigewordene Indoxyl wird rasch zu Indigblau oxydiert, das sich im Mikroskop in Form blauer Körnchen, ausschließlich im Plasma des grünen Parenchyms und der Epidermis zu erkennen gibt. — Werden lebende Schnitte in eine siedende Mischung von konzentrierter Salzsäure und Isatin eingetaucht, so geht das Indican in Indigrot über und dieses setzt sich gleichfalls im Plasma in Form roter Kristallnadeln ab. Das Indican hat daher nach Beijerinck ausschließlich seinen Sitz im Plasma.

b) Werden mikroskopische, lebende Schnitte in eine Indicanlösung (Dekokt von Indigofera oder Polygonum) getaucht, so werden sie in kurzer Zeit schwärzlich-blau und die mikroskopische Untersuchung lehrt, daß sich das Indigblau nur in den Chlorophyllkörnern des grünen Mesophylls und in den Schließzellen der Epidermis niederschlägt. Tötet und extrahiert man aber die Schnitte vorher mit Alkohol, so breitet sich das Enzym in der Zelle aus, und wenn dann die Schnitte in eine Indicanlösung getaucht werden, so färben sie sich gleichmäßig intensiv blau. Daraus schließt Beijerinck, daß das Ferment seinen Sitz ausschließlich in den Chromatophoren hat, und dasselbe gilt nach ihm auch für das Ferment des Waids, die Isatase, die die Spaltung der Indoxylverbindung bewirkt[1]).

Ich habe hier die Anschauung Beijerincks über die Lokalisierung des Indicans und des Ferments wiedergegeben, ich bemerke aber, daß ich bei Wiederholung seines unter a) geschilderten Versuches gefunden habe, daß ich nicht bloß das Plasma, sondern auch die Chlorophyllkörner, und diese sind nicht selten, intensiv blaugefärbt gesehen habe. Daher dürfte wohl über die Verteilung des Indicans und des zugehörigen Fermentes innerhalb der Zelle noch nicht das letzte Wort gesprochen sein.

Leake (I) führt den mikrochemischen Nachweis des Indicans in folgender Weise durch, die leider sehr umständlich ist.

Kleine Gewebestücke oder Schnitte werden in eine Mischung von

Eisessig	2 ccm
Konz. Schwefelsäure	1 ccm
Ammoniumpersulfat	0,5 g
Wasser	100 ccm

eingelegt und hier gewöhnlich 4—6 Stunden oder, wenn notwendig, höchstens bis 12 Stunden belassen, bis sie von der Flüssigkeit vollständig durchdrungen sind. Dann wird das Material in täglich gewechseltem 50proz. Alkohol 3—4 Tage lang

1) Aus einer Stelle bei Beijerinck (IV, 502) scheint hervorzugehen, als ob ich die Hypothese aufgestellt hätte, daß das Indican in naher Beziehung zur CO_2-Assimilation im Chlorophyllkorn steht. Das ist aber nicht richtig, denn ich habe nur die Möglichkeit einer solchen Beziehung angedeutet und auch ihre Unwahrscheinlichkeit ausdrücklich betont (Molisch VIII, 232).

gewaschen, in Paraffin eingebettet und geschnitten. Die Schnitte werden nach Behandlung mit Xylol und abs. Alkohol für 12 Stunden in eine Mischung von Hämatoxylin und Eosin (Delafields Hämatoxylin 50 ccm und Wasser 300 ccm) und dann solange in sauren Alkohol (1proz. HCl in 50% Alkohol) eingelegt, bis sie dem freien Auge farblos erscheinen. Nun werden die Schnitte, um den Alkohol und die Säure zu entfernen, mit Wasser gewaschen, für mindestens 1 Stunde in eine 1proz. Lösung von Grübler'schem, wasserlöslichen Eosin gebracht, rasch mit Alkohol entwässert, in Xylol überführt und endlich in Balsam eingeschlossen. Ich glaube nicht, daß diese überflüssig umständliche Methode gegenüber den früher erwähnten einen Fortschritt bedeutet, auch möchte ich bezweifeln, daß sich gerade dieses Verfahren, bei welchem die Zelle sicherlich stark in Mitleidenschaft gezogen wird, dazu eignet, zu entscheiden, ob die Chromatophoren oder das Plasma das Indican enthalten.

5. Die Farbstoffe der Chromatophoren.

Farbstoff ist kein chemischer Begriff. Wenn also in diesem Kapitel eine Reihe von Körpern im Zusammenhange behandelt werden, so soll selbstverständlich damit nicht angedeutet werden, als ob sie miteinander verwandt wären. Bei dieser Gruppierung waren nur praktische Gesichtspunkte maßgebend, denn viele Farbstoffe sind ihrer chemischen Natur nach so wenig bekannt, daß sie sich sonst schlecht unterbringen lassen.

Die für die Pflanze so überaus wichtigen, stets im Plasma eingebetteten Chromatophoren enthalten einige sehr charakteristische Farbstoffe. Obwohl sie in ihren Eigenschaften sehr voneinander abweichen und vielfach gar keine Verwandtschaft bekunden, erscheint es doch zweckmäßig, sie vorläufig zu einer Gruppe zu vereinigen, da sie alle das gemeinsam haben, daß sie an lebende plasmatische Gebilde, an die Chromatophoren gebunden sind. Es liegt dem Plane dieses Buches ferne, die große, die Makroanalyse betreffende Literatur dieser Pigmente hier zu behandeln, es wird daher naturgemäß nur soweit darauf Rücksicht genommen werden, als es zur Orientierung und für die mikrochemische Schilderung notwendig ist.

Chlorophyll.

Unter den Chromatophoren sind wohl die grünen, gewöhnlich als Chlorophyllkörner bezeichneten, die wichtigsten. Sie sind im Pflanzenreiche überaus weit verbreitet und stellen die Organe der Kohlensäure-Assimilation dar.

Eigenschaften.

Sorby, Borodin, Monteverde, Tschirch, Kraus G., Marchlewsky, Schunk, Hansen, Tswett, Hoppe-Seyler und andere haben die Kenntnisse über den Chlorophyllfarbstoff gefördert, in jüngster Zeit aber haben die glänzenden und umfassenden Forschungen Willstätters (I—V) und seiner Schüler uns über diesen wichtigsten der Pflanzenfarbstoffe einen tieferen Einblick verschafft.

a) Amorphes Chlorophyll. Nach Willstätter enthalten die Chloroplasten in kolloidalem Zustande, gemischt mit farblosen Substanzen, vier Pigmente, nämlich zwei einander verwandte Chlorophyllfarbstoffe und zwei gelbe.

Chlorophyllkomponente a von der Zusammensetzung $C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$, blauschwarz, in Lösung grünblau;

Chlorophyllkomponente b von der Zusammensetzung $C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$, grünschwarz, in Lösung reingrün;

Carotin von der Formel $C_{40}H_{56}$, orangerote Kristalle;

Xanthophyll von der Formel $C_{40}H_{56}O_2$, gelbe Kristalle.

In allen untersuchten Pflanzen erwiesen sich die Farbstoffe identisch. Das Chlorophyll enthält 2·7% Magnesium und in Übereinstimmung mit den Angaben von Molisch (X) kein Eisen. Bei der Verseifung liefert das Chlorophyll den stickstoffreien Alkohol Phytol ($C_{20}H_{40}O$); das native Chlorophyll kann somit als Phytol betrachtet werden, der mit den beiden grünen Komponenten *a* und *b* verbunden ist. Die ungemein charakteristischen Spektra von *a* und *b* zeigt die Fig. 81.

b) Kristallisiertes Chlorophyll. Die frisch bereitete alkoholische Chlorophyllösung aus Blättern enthält die gelben Farbstoffe unverändert, die grünen aber nicht, weil, wie Willstätter gezeigt hat, sich die grünen durch ein Enzym (Chlorophyllase) unter Beibehaltung ihrer Farbe ändern.

Nach Willstätter besteht die Umwandlung des amorphen Chlorophylls darin, daß unter dem Einflusse der im Chloroplasten vorhandenen Chlorophyllase der mit dem Lösungsmittel gebotene Alkohol an Stelle des Phytols tritt und sich mit dem chromophoren Chlorophyllbestandteil verbindet. Bei Darbietung von Äthylalkohol entsteht Äthylchlorophyllid, bei der von Methylalkohol das entsprechende Methylchlorophyllid.

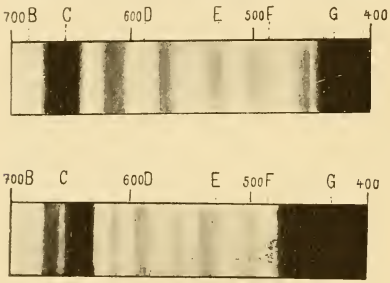


Fig. 81.
Absorptionsspektrum von reinem Chlorophyll *a* (oben) und Chlorophyll *b* (unten). Nach Willstätter.

Die grünen Kristalle, die Borodin (I) seinerzeit durch Betupfen von Pflanzenschnitten mit Alkohol erhalten hat und die man bisher als „kristallisiertes Chlorophyll" bezeichnet hat, sind ein Gemisch der Äthylchlorophyllide *a* und *b*. Sie bilden in wechselndem Verhältnis Mischkristalle. Nach Willstätter hat das

Äthylchlorophyllid *a* die Formel $C_{37}H_{39}O_5{}^1/_2N_4Mg$
„ *b* „ „ $C_{37}H_{37}O_6{}^1/_2N_4Mg$

Das Chlorophyll ist in Alkohol, Äther, Chloroform, Schwefelkohlenstoff, Olivenöl, Benzin und anderen organischen Lösungsmitteln mit grüner Farbe und roter Fluoreszenz löslich. Sein Absorptionsspektrum ist sehr charakteristisch.

Nachweis.

1. Reaktion von Molisch (IX). Wird ein Chlorophyllkörper führendes Gewebestück, das mit Wasser nicht benetzt sein darf, mit **wässeriger gesättigter Kalilauge versetzt, so färben sich die Chlorophyllkörner nahezu augenblicklich gelbbraun,** um nach längstens ¼—½ Stunde wieder von selbst grün

zu werden. Der Umschlag der gelbbraunen in die grüne Färbung erfolgt sofort beim Erwärmen bis zum Sieden oder bei Zufuhr von Wasser, etwas weniger rasch nach Zufuhr von Alkohol, Äther oder Glyzerin. Zur Einübung seien die dünnen Blätter von Moosen (Mnium), Elodea, ferner Farnprothallien und Algenfäden (Cladophora, Spirogyra) empfohlen. Die Reaktion gelingt auch mit Chlorophyllkörnern, die durch siedendes Wasser oder durch Austrocknen getötet wurden, ja auch mit grünen Blättern, die jahrelang im Herbar lagen. Diese von Molisch (IX) entdeckte braune Phase des Chlorophylls hat, wie aus Willstätters Studien (V, 27 u. 144) hervorgeht, auch bei den neuesten Untersuchungen über Chlorophyll gute Dienste geleistet.

2. Phaeophytin(Chlorophyllan)-Reaktion. Behandelt man grüne Gewebe mit verdünnter Salzsäure (1 Vol. konzentrierte Salzsäure + 4 Vol. Wasser), so tritt zunächst eine Verfärbung nach Goldgelb bis Braungelb ein. Nach einigen Stunden oder schon früher erscheinen dann in den Chlorophyllkörnern, vornehmlich an ihrer Peripherie dunkle, braune oder rostfarbige Massen. Aus diesen entwickeln sich bei älteren Präparaten braune, kürzere, gerade oder gekrümmte, auch wellenartig gebogene Stäbchen mit spitzen oder stumpfen Enden, gerade gebogene oder schraubig gewundene Nadeln oder Fäden (Fig. 82). Diese äußerst charakteristische Reaktion wurde von Pringsheim (I) aufgefunden, irrtümlich nicht auf Chlorophyll, sondern auf eine ganz hypothetische Substanz (Hypochlorin) zurückgeführt und erst später als Chlorophyllan-Reaktion von anderer Seite (A. Meyer I; Tschirch III, 42) erkannt. Durch die Säure wird das Chlorophyll zersetzt und liefert das im durchfallenden Lichte braune Produkt, das Chlorophyllan.

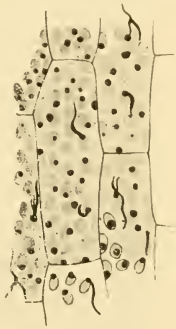


Fig. 82.
Elodea canadensis-Blattzellen, die Chlorophyllan-Reaktion zeigend nach Behandlung mit verd. Salzsäure. Die in die Chlorophyllkörner eingezeichneten schwarzen Punkte und Fäden stellen das braune Chlorophyllan dar. Vergr. 180.

Das von Hoppe-Seyler dargestellte Chlorophyllan war keine reine Substanz, sondern vermengt mit Phospholipoiden, bestand aber wohl der Hauptmasse nach aus jenem Körper, den Willstätter aus dem Chlorophyll durch Säure, insbesondere durch alkoholische Oxalsäurelösung in reiner Form abschied und als Phaeophytin bezeichnet hat.

„Phaeophytin ist ein Wachs; es wird nicht in deutlich kristallisierter Form erhalten, bildet aber baumähnliche kristallinische Gebilde. Es ist blauschwarz gefärbt, in Lösung olivbraun und bei großer Schichtendicke in der Durchsicht rot“ (Willstätter V, 261).

Wird das Phaeophytin direkt im Chloroplasten, sei es mit konzentrierter alkoholischer Oxalsäure, sei es mit verdünnter Salzsäure gewonnen, so stellt es wahrscheinlich keinen ganz reinen Körper dar, und daher mag es wohl kommen, daß es mit der oben gegebenen Beschreibung Willstätters nicht ganz übereinstimmt. Im Chloroplasten erscheint es braun und in den bereits erwähnten Formen.

Wie Salzsäure, wirken auch andere verdünnte Säuren, Pikrinsäure, Schwefelsäure (5—10%). A. Meyer (I, 16 u. 18) empfiehlt besonders Essigsäure (1 Vol. Essigsäure + 2—4 Vol. Wasser) und zur rascheren Erzeugung der braunen Kristalle zuerst Behandlung mit verdünnter Salzsäure und nachherige Behandlung des mit Filtrierpapier abgetrockneten Schnittes mit reinem Eisessig.

Das Phaeophytin läßt sich nach meinen Erfahrungen in jedem Tropfen alkoholischer Chlorophyllösung in folgender Weise zur Anschauung bringen. Wird eine recht konzentrierte Lösung von Chlorophyll z. B. aus Brennessel-, Georginen-, Ipomoea- oder Selaginella-Blättern in starkem Alkohol auf einen Objektträger aufgetropft und verdampfen gelassen, so sieht man im Mikroskop einen homogenen grünen Rückstand. Betupft man diesen am Rande, wo das Chlorophyll sich als tief grüner Saum abgeschieden hat,

Fig. 83.
Phaeophytin-Kristalle, gewonnen aus einem Tröpfchen Chlorophyllösung. Vergr. 285.

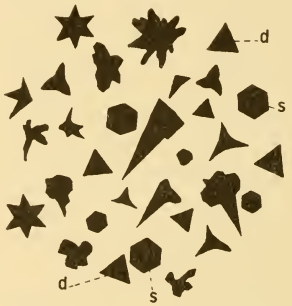


Fig. 84.
Äthylchlorophyllid-Kristalle der Georgine. Besonders bezeichnend sind die 3- und 6eckigen Kristalle *d* und *s*. Vergr. 285.

mit Chloroform, so löst sich der Rückstand rasch und nach mehreren Stunden oder nach einem Tage bilden sich in der zurückgebliebenen Masse zahllose unregelmäßige, bräunlich erscheinende Phaeophytin-Warzen oder es entstehen dendritische oder lockenförmige Gebilde (Fig. 83). Ähnliche Ausscheidungen erhält man nach Betupfen mit Anilin oder Aceton.

Die Chlorophyllan-Kristalle sind schwer löslich in kaltem Alkohol, langsam in Petroläther, sehr rasch aber in Äther, Benzol, Aceton und Chloroform. —

3. Überführung in „kristallisiertes Chlorophyll". Betupft man Schnitte gewisser grüner Blätter mit Alkohol und läßt man daß Präparat unter Deckglas langsam austrocknen, so entstehen, wie zuerst Borodin (I) gezeigt hat, eigentümliche grüne bis blauschwarze Kristalle, die aber nicht reines Chlorophyll, sondern wie bereits be-

merkt, Äthylchlorophyllid darstellen. Größe, Form und Farbenton schwanken. Dominierend erscheinen gleichseitige, mitunter an Tetraeder erinnernde Dreicke, ferner Sechsecke, Sterne und zahlreiche andere Formen, darunter auch Dendrite (Fig. 84). Diese Kristalle zeichnen sich im Gegensatz zu amorphem Chlorophyll durch große Resistenz gegenüber direktem Sonnenlicht und verdünnten Säuren aus. In Alkohol und Chloroform lösen sie sich leicht, hingegen sehr schwer in Benzin. Nicht jede beliebige Pflanze eignet sich zur Darstellung der Kristalle, denn unter 776 Arten konnte Borodin nur bei etwa 24% die Kristalle gewinnen. Zu den Pflanzenfamilien, die große Neigung zur Bildung solcher Kristalle zeigen, gehören die Pomaceen und Amygdaleen, entgegengesetzt verhalten sich Pflanzen, die reich an organischen Säuren sind, wie Rumex oder Oxalis. Gute Resultate geben mittelalte Blätter von Dahlia. Grüne Kristalle und Carotinkristalle erhielt in verschiedenen Algen nach Anwendung von Alkohol, Estern, Aldehyden und Ketonen auch Liebaldt (I).

Prachtvolle Kristalle von Äthylchlorophyllid erhielt ich in folgender Weise: Frische konzentrierte alkoholische Chlorophyllösung wird am Objektträger unter ein großes Deckglas von 24×30 mm gebracht, das auf einer Kante durch einen dickeren Glasfaden derart gestützt ist, daß ein keilförmiger Raum zwischen Objektträger und Deckglas entsteht. Läßt man die Lösung langsam verdunsten und dann noch 1—2 Tage stehen, so erhält man die in der Fig. 84 abgebildeten Kristalle.

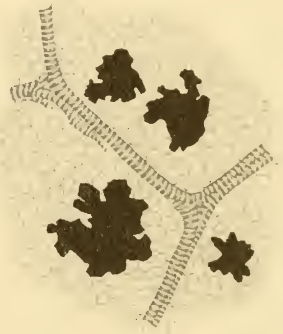


Fig. 85.
Kristallinisches Methylchlorophyllid eines Blattes von Heracleum sphondylium. Vergr. 285.

Methylchlorophyllid kann gleichfalls aus frischen Blättern kristallisiert gewonnen werden, wenn man Schnitte durch Blätter von Heracleum mit 70proz. Methylalkohol unter Deckglas behandelt und diesen dann verdunsten läßt (Fig. 85). Es scheiden sich dann grüne Schollen, unscharf begrenzte Klumpen oder Kristallrauten ab (Willstätter V). Bessere Resultate als mit Schnitten erhielt ich mit Flächenstücken der Blätter (Georgine) und namentlich mit ganzen jungen Blättern von Selaginella Martensii.

Da die Überführung des amorphen Chlorophylls in kristallisiertes nicht immer gelingt, so wird man von diesem Verfahren wohl nur selten Gebrauch machen, zumal ja die beiden Reaktionen 1 und 2 ausgezeichnete Dienste leisten; ich glaube aber Borodins Entdeckung nicht übergehen zu sollen, da sie mehrfaches Interesse bietet und da der Mikroskopiker dem kristallisierten Chlorophyll in Alkoholmaterial nicht selten begegnet.

4. Die Fluoreszenzprobe gelingt auch mit mikroskopischen Schnitten sehr gut, wenn man das Gewebe unter Deckglas mit Alkohol

behandelt, das Chlorophyll in Lösung überführt und diese dann direkt oder in der Kapillare im konvergenten Lichtkegel in direktem Sonnenlicht beobachtet. Die Lösung erscheint dann blutrot.

Carotine.

Der Begriff Carotin hat sich nach und nach zu einem Gruppenbegriff entwickelt. Ursprünglich verstand man darunter den orangegelben Farbstoff der Wurzel von Daucus Carota. Später hat man ganz ähnliche Farbstoffe in den Chlorophyllkörnern der Blüten, Früchte, der herbstlich verfärbten gelben Blätter und anderwärts gefunden und mit verschiedenen Namen (Chlorophyllgelb, Xanthophyll, Erythrophyll, Xanthocarotin, Etiolin, Phykoxanthin usw.) bezeichnet. Heute weiß man, daß viele dieser Farbstoffe zwar nicht indentisch, aber doch miteinander verwandt sind und daher zur Gruppe der Carotine zusammengefaßt werden können.

Mit Willstätter (III) kann man die gelben Begleiter des Chlorophylls in zwei Gruppen einteilen, in die Carotin- und in die Xanthophyllgruppe. Die einen lösen sich in Benzin leicht und in Alkohol schwer, die anderen verhalten sich umgekehrt. Aus jeder der beiden Gruppen hat man je einen Körper rein dargestellt und genauer studiert: Das Carotin aus der Reihe der benzinlöslichen und das Xanthophyll aus der der benzinschwerlöslichen Farbstoffe.

Das Carotin, $C_{40}H_{56}$.

Dieser Kohlenwasserstoff ist in den Chlorophyllkörnern allgemein verbreitet; er wurde von Willstätter und Mieg (IV) rein dargestellt und genauer charakterisiert. Er kristallisiert in rhombenförmigen, fast quadratischen Kristalltafeln mit häufigen Einkerbungen; die Kristalle sind kupfrig rot und sammetartig glänzend. Im durchfallenden Lichte erscheinen die Kristalle selbst in dünner Schicht rot, während Xanthophyll gelb ist. Schwer löslich in siedendem, fast unlöslich in kaltem Alkohol, ziemlich schwer löslich in Petroläther, Aceton, leicht in Benzol, sehr leicht in Chloroform und besonders in Schwefelkohlenstoff. Carotin nimmt leicht Sauerstoff auf, ist autoxydabel, gibt mit konzentrierter Schwefelsäure eine tiefblaue Farbenreaktion, ebenso mit konzentrierter Salpetersäure und mit Salzsäure-Phenol oder -Thymol. Mit Brom wird es kantharidengrün, in der Durchsicht blau.

Xanthophyll, $C_{40}H_{56}O_2$

begleitet das Chlorophyll und Carotin in den Chlorophyllkörnern. Willstätter charakterisiert es etwa so: Vierseitige, oft trapezförmige Täfelchen, häufig mit Einkerbungen durch Bildung schwalbenschwanzförmiger Zwillinge, auch (aus Alkohol) lanzett- und keilförmig zugespitzte Prismen. Die Kristalle sind dunkelbraunrot mit starkem, stahlblauem Reflex, in der Durchsicht gelb und unter dem Mikroskop nur, wo zwei Kristalle sich kreuzen, orangerot. Ziemlich schwer löslich in kaltem Äthylalkohol, in Petroläther unlöslich (Unterschied von Carotin), in Äther und Aceton ziemlich leicht löslich, in Benzol und Schwefelkohlenstoff in der Kälte ziemlich schwer, in Chloroform sehr leicht. Xanthophyll ist gleichfalls ungesättigt und autoxydabel. Es zeigt die typische Carotinreaktion mit konzentrierter Schwefelsäure.

Eine Übersicht über die Eigenschaften der beiden behandelten Körper ergibt sich aus der folgenden Tabelle (Willstätter III, 689)

	Carotin	Xantophyll
Formel	$C_{40}H_{56}$	$C_{40}H_{56}O_2$
Aussehen	kupfrige Blättchen	pleochromatische, dunkelbraunrote Täfelchen
Kristallhabitus bei mikroskopischen Kristallen	beinahe quadratische Form	trapezförmig, mit häufiger Zwillingsbildung
Farbe in der Durchsicht	rot	gelb bis orange
Schmelzpunkt (unt. Zersetz.)	167,2—168°	172°
Löslichkeit in niedrig siedendem Petroläther	beträchtlich löslich	unlöslich
Löslichkeit in Alkohol	kalt fast unlöslich, heiß sehr schwer löslich	kalt ziemlich schwer löslich, heiß ziemlich leicht
Löslichkeit in Aceton	recht schwer löslich	leicht löslich
Löslichkeit i. kaltem Schwefelkohlenstoff	spielend löslich	ziemlich schwer löslich

Nachweis.

1. Kalimethode. Um Carotine im Gewebe oder in der Zelle der Blätter nachzuweisen, verfährt Molisch (XI) in folgender Weise: Die frischen grünen Blätter oder kleine Stücke davon werden in 40proz. (Vol.) Alkohol, der 20% (Gewicht) Kaliumhydroxyd gelöst enthält, gelegt und darin mehrere Tage, gewöhnlich so lange bei Abschluß von Licht belassen, bis alles Chlorophyll ausgezogen ist. Um die Absorption von atmosphärischer Kohlensäure durch die Kalilauge zu verhindern, wird die Prozedur in mit gut eingeschliffenen Glasstopfen versehenen Präparatengläsern von verschiedener Größe (100—200 ccm) vorgenommen. So wird oft schon nach einem Tage das Chlorophyll als Alkalichlorophyll dem Blatte völlig entzogen, das Carotin aber bleibt im Blatte zurück. Das Blatt sieht gelb, etwa wie ein etioliertes aus. Das von Chlorophyll also befreite, mehrere Tage in der Kalilauge gelegene Blatt gibt man, um die Kalilauge auszuwaschen, auf mehrere Stunden in destilliertes Wasser und legt dann Fragmente der Blätter zur mikroskopischen Beobachtung und Anfertigung von Dauerpräparaten in reines Glyzerin. Man findet dann fast in jeder früher Chlorophyll führenden Zelle das Carotin auskristallisiert. Epidermis und Gefäßbündel sind frei von Farbstoffkristallen, das Assimilationsparenchym ist damit wie besät (Fig. 86). Nur in seltenen Fällen kommt es nicht zur Abscheidung von Kristallen, sondern nur zur Ausbildung von Carotintropfen. In solchen Fällen kann Erwärmen bis auf 70—80° die Kristallbildung fördern. So wie grüne Blätter verhalten sich auch etiolierte.

Die Kristalle sind gelborange bis braunorange und zeigen prächtigen Perlmutterglanz, wenn man auf das Präparat einen Lichtkegel wirft und bei schwacher Vergrößerung nur im auffallenden Lichte beobachtet. Ihre Formen wechseln: einzelne Nadeln oder unregelmäßige stern- oder büschelartige Aggregate von solchen, Tafeln mit parallelen oder ausgezackten Rändern, säbel-, hobelspanartige Kristalle, sowie verschieden geformte Schuppen.

Mit konzentrierter Schwefelsäure werden die Kristalle prachtvoll indigblau. Da, wo der Farbstoff nur in Form gelber Tropfen vorliegt oder den Zellinhalt durchtränkt, gibt er sich ebenfalls mit konzentrierter Schwefelsäure durch eine tiefblaue Farbe zu erkennen. Bei Zusatz von Wasser verschwindet die blaue Farbe. Trockenes Schwefeldioxyd färbt gleichfalls indigblau; auch in konzentrierter Salpetersäure nehmen sie diese Farbe an, aber nur kurze Zeit. Mit Bromwasser und Bromdampf werden die Kristalle rasch vorübergehend blau und schließlich farblos. Mit konzentrierter Salzsäure, die etwas Phenol beigemischt enthält, werden sie nach Molisch (XI, 25) in kurzer Zeit tiefblau. Wie Phenol wirkt auch Thymol. In Jodchloralhydrat (5 Teile Chloralhydrat, 2 Teile Wasser und Jod im Überschuß) nehmen sie eine schmutziggrüne Farbe an. Schließlich sei bemerkt, daß alle angeführten Reaktionen am besten gelingen, wenn man den in Wasser ausgewaschenen und von KOH befreiten Gewebestücken durch Filtrierpapier oder im Exsikkator vor der Reaktion das Wasser möglichst entzieht. Sehr gute Resultate liefert die Kalimethode mit den Blättern von Mimulus moschatus, Polygonum tinctorium, Mercurialis annua, Triticum vulgare, Elodea canadensis u. a.

Fig. 86.
Carotinkristalle in einem Elodeablattstück, gewonnen durch die „Kalimethode". Vergr. etwa 250.

Wisselingh (I) fand, daß Carotine sich auch mit Selensäure und mit gesättigten Lösungen von Antimonchlorür, Zinkchlorid in 25proz. Salzsäure und Aluminiumchlorid in 38proz. Salzsäure blau färben. Die Selensäure des Handels muß, wenn sie viel Wasser enthält, durch Eindampfen konzentriert werden. Bei Anwendung von Antimonchlorürlösung müssen die Präparate erst in Salzsäure gebracht werden, um der Entstehung des in Wasser unlöslichen Antimonchlorürs vorzubeugen. Wenn mit Chlorzinklösung die Blaufärbung ausbleiben sollte, so empfiehlt sich schwache Erwärmung. Antimonchlorür eignet sich von den durch Wisselingh neu empfohlenen Reagentien zur Blaufärbung am besten; es hat gegenüber der Schwefelsäure und dem Chlorzink den Vorteil, daß es die Zellwände nicht so stark angreift.

2. Die Säuremethode. Frank und Tschirch (III, 92) haben zuerst darauf aufmerksam gemacht, daß man innerhalb der Zellen rote Kristallnadeln erhält, wenn man ganze Blätter in sehr verdünnte Säuren einlegt und sie dann nach dem Auswaschen längere Zeit im Wasser liegen läßt. Die Kristalle stimmen mit den durch die „Kalimethode" gewonnenen, soweit sich dies auf mikroskopischem Wege feststellen läßt, im wesentlichen überein (Molisch XI, 27). Tammes (I) empfiehlt 1- bis 10proz. Salzsäure, 1- bis 10proz. Oxalsäure, 1- bis 10proz.

Weinsäure und andere. Die Pflanzenteile sollen ein bis mehrere Tage in der Lösung verweilen; bisweilen genügen schon einige Stunden. Schließlich werden die Objekte mehrere Stunden in Wasser ausgewaschen und sogleich untersucht.

Die Säuremethode kann sich mit der Kalimethode an Brauchbarkeit und Zuverlässigkeit nicht messen. Diese hat sich am besten bewährt, wie auch die umfassenden Untersuchungen Wisselinghs (I, 391) bestätigt haben. Eine sehr beschränkte Anwendbarkeit kommt auch der Ausscheidung der Carotine durch Chloralhydrat, Phenol, Pyridin, Pikolin, Lutidin und Piperidin zu (Wisselingh I, 393).

3. Die Resorcinmethode (Tswett II, III). Das chlorophyllhaltige Gewebe wird in eine konzentrierte Resorcinlösung (10 bis 12 Teile Resorcin auf 10 Teile Wasser) gebracht, welche plasmatische Stoffe und Lipoide verflüssigt bzw. auflöst. Nach Stunden oder Tagen schießen orangerote Kristallbüschel oder sternartige Aggregate in großer Zahl an. Die Resorcinlösung hat die unangenehme Eigenschaft, sich an der Luft alsbald tief zu bräunen.

Der Mikrochemiker wird gewöhnlich nicht imstande sein, unterm Mikroskop im Gewebe Carotin, Xanthophyll, Lykopin und verwandte gelbe oder rote Farbstoffe voneinander zu unterscheiden, sondern er wird in den meisten Fällen nur sagen können, daß ein carotinartiger Körper, also irgend ein Carotin vorhanden ist. Wenn daher hier das Wort Carotin gebraucht wird, so ist es, falls nichts besonderes bemerkt wird, immer im Sinne eines Gruppenbegriffes genommen, in demselben Sinne wie man von Zucker oder Eiweiß spricht.

Vorkommen.

Carotin ist im Pflanzenreiche weit verbreitet, was ja auch schon daraus hervorgeht, daß es stets ein Begleitfarbstoff des Chlorophylls ist. Von den Algen bis zu den höchsten Phanerogamen wurde es gefunden, und zwar in den verschiedensten Teilen: in Blättern, Blüten, Früchten, Samen und sonstigen Organen (Kohl I). Auch viele Pilze enthalten es (vgl. p. 221). Die von den Carotinen erzeugten Farbennuancen schwanken von gelb nach orange bis rot. Man denke an die gelben Blüten der Ranunculaceen und Compositen und an die roten Früchte des Paradiesapfels, des Geisblatts und anderer. Der Saum der grünlichgelben Nebenkrone von Narcissus poeticus ist bekanntlich rot, mit einem Stich in Orange gefärbt. Die diesen Saum zusammensetzenden Zellen sind mit orangeroten Carotinkristallen erfüllt und bedingen die auffallende Färbung des Kronensaumes (Courchet I, 335, Molisch XXIII). Zahlreiche Beispiele von Carotin führenden Chromoplasten in vegetativen Organen machte jüngst Rothert (I) namhaft. In manchen Fällen kristallisiert das Carotin sogar im Chromatophor aus, so in der Wurzel von Daucus Carota, in den Früchten von Lonicera Xylosteum, Sorbus aucuparia, Rosa arvensis, in den Blüten von Tropaeolum majus und anderen (Schimper I, 120 u. d. flg., Courchet I).

Ausnahmsweise kommen in Laubblättern auch rote Chromoplasten vor, z. B. in dem im Winter sich rot oder braun färbenden Laube verschiedener Coniferen, in den Blättern von Selaginella-, Aloë- (Molisch XXIII), Potamogeton-Arten (Iltis) und alten sich rot verfärbenden Blättern von Reseda lutea und odorata. Die Blatt- und Blütenstiele von Adoxa moschatellina enthalten fast nur rote Chlorophyllkörner. Die Chlorophyllkörner vieler Aloë-Arten nehmen infolge intensiver Beleuchtung eine rote Farbe an, färben sich bei darauf folgender längerer

Verfinsterung wieder normal grün, bei neuer starker Bestrahlung abermals rot, um bei lang andauerndem, direktem Sonnenlichte meistens wieder von selbst grün zu werden. Die Ursache der roten Färbung ist hier ein Carotin.

Bei einigen Liliaceen (Dracaena draco, D. reflexa, D. glabra, Aletris fragrans, Sansiviera maculata, S. arborea und S. cylindrica) sind die Wurzeln gelb bis orangerot gefärbt. Nach den Untersuchungen von Schmidt (I), die ich im wesentlichen bestätigen kann, rührt die Färbung von einem Carotin her, das aber hier nicht in Chromatophoren, sondern gelöst im Zellinhalt auftritt. Es findet sich in der Exodermis vor, deren Zellen in den von mir untersuchten Fällen einen klaren, orangegelben Saft enthielten. Häufig liegen in diesem Safte einzelne oder viele tieforangefarbene, rubin- oder granatrote Kügelchen von 2—9 μ Größe, die die Reaktionen des Carotins zeigen.

Über die Carotine der Pilze vgl. p. 221.

Phaeophyll.

a) Bei Phaeophyten oder Braunalgen.

Die Braunalgen verdanken ihre braune Farbe einem in den Chromatophoren neben Carotin (Gruppenbegriff) und Fukoxanthin befindlichen braunen Farbstoff, dem Phaeophyll (Molisch XIII). Man war früher allgemein der Meinung, daß die Braunalgen einen angeblich im Wasser löslichen braunen Farbstoff besitzen, der das Chlorophyll maskiert und Phykophäïn genannt wurde. Molisch (XIII) hat aber gezeigt, daß das sogenannte Phykophäïn erst nach dem Absterben, z. B. bei Behandlung der Algen mit heißem Wasser, aus einem Chromogen entsteht und in der lebenden Pflanze gar nicht vorkommt. Die Ansicht von Molisch, daß das Phykophäïn ein postmortales Produkt ist, erscheint jetzt allgemein angenommen, auch von Willstätter (V, 122), obwohl Tswett (IV) noch Bedenken hegte. Bezüglich der Einwände von Tswett sei auf meine Erwiderung hingewiesen (Molisch XIV).

In dem lebenden Chromatophor kommt vielmehr nach Molisch ein dem gewöhnlichen Chlorophyll sehr nahestehender Körper, ein „braunes Chlorophyll“ vor, das durch chemische Veränderung in gewöhnliches Chlorophyll übergeführt wird. Wenn ein lebendes Thallusstück von Fucus, Laminaria, Dictyota oder einer anderen Braunalge beim Eintauchen in heißes Wasser, Alkohol oder heiße Luft augenblicklich grün wird, so beruht dies auf der Umwandlung des Phaeophylls in Chlorophyll. Neben dem Phaeophyll kommen in dem Chromatophor der Braunalgen noch Carotin, Xanthophyll und Fukoxanthin vor, welch letzterer Körper identisch mit Kylins (III) Phykoxanthin und Molischs Leukocyan ist.

Mikrochemisches.

a) Die oben erwähnte plötzliche Farbenumwandlung von Braun in Grün beim raschen Abtöten, z. B. durch heißes Wasser, läßt sich auch in mikroskopischen Schnitten, ja an der einzelnen Zelle beobachten, wenn man sie im Wassertropfen erhitzt. Von einer Entmischung, etwa einer Scheidung eines braunen und eines grünen Farbstoffes ist nichts zu sehen, der Chromatophor wird einfach im Momente des Todes grün.

b) Braunalgen nehmen in 2proz. wässriger Salzsäure eine eigenartige, prachtvoll spangrüne oder blaugrüne Farbe an, die von einem im Chromatophor vorhandenen Körper herrührt, den Molisch Leukocyan, Kylin Phykoxanthin und Willstätter Fukoxanthin genannt hat. Dieser Körper ist nach Willstätter aschefrei, hat die Formel $C_{40}H_{54}O_6$ und kristallisiert aus Methylalkohol in braunroten Prismen von monoklinem Habitus und aus Weingeist unter Abschluß von Luft in großen sechsseitigen Tafeln, im durchfallenden Licht von gelber bis roter Farbe je nach der Dicke.

Die Blaugrünfärbung des Thallus in Salzsäure beruht auf der entsprechenden Färbung der Chromatophoren (Molisch XIII, 137). Der blaue Körper (Phaeocyan) entsteht auch mit verdünnter Schwefelsäure, Salpetersäure und konzentrierter Essigsäure. Kalilauge und Ammoniak entfärben das Phaeocyan, Salzsäure stellt die blaue Farbe wieder her.

β) Bei Diatomeen.

Die Kieselalgen besitzen bekanntlich im lebenden Zustande eine braune oder gelbbraune Farbe und gewöhnlich wurde angenommen, daß im Chromatophor neben Chlorophyll noch ein besonderer braungelber Farbstoff, das Diatomin vorhanden sei, und diese beiden Farbstoffe die für Diatomeen charakteristische Mischfarbe geben. Gegen diese Ansicht habe ich mich gewendet und zu beweisen versucht, daß die Kieselalgen ebenso wie die Phaeophyten in ihrem lebenden Chromatophor ein braunes Chlorophyll, das Phaeophyll, enthalten, das beim raschen Absterben der Zelle in gewöhnliches Chlorophyll übergeführt wird (Molisch XIII, 139). Neben dem Phaeophyll kommt noch Carotin, vielleicht auch Xanthophyll und außerdem noch Leukocyan vor. Was man früher als Diatomin bezeichnet hat, ist wohl mit Carotin identisch. — Auch die Kieselalgen werden, wenn man sie mit Alkohol, heißem Wasser, Äther, heißer Luft usw. abtötet, grün. Von einer Entmischung eines gelbbraunen und eines grünen Farbstoffes bei dem Farbenumschlag ist im Mikroskop auch nicht eine Spur zu sehen, sondern die Diatomee wird einfach grün. Alle einschlägigen Erfahrungen lassen sich am besten durch meine Annahme erklären, daß ebenso wie bei den Braunalgen im lebenden Chromatophor ein sehr labiles braunes Chlorophyll (Phaeophyll) vorhanden ist, das beim Absterben in gewöhnliches Chlorophyll übergeht. Wie sich die Sache bei den Chrysomonaden, z. B. bei Chromophyton Rosanoffii verhält, deren braungelbe Chromatophoren ebenfalls eine rein grüne Farbe in der Siedehitze annehmen, bleibt zu untersuchen, jedenfalls bedürfen die Angaben von Gaidukov (I) über die Farbstoffe dieser Flagellaten einer Überprüfung.

Die Scheidung von Chlorophyll und gelbem Farbstoff (Carotin) läßt sich auch unterm Mikroskop in folgender Weise durchführen. Eine stecknadelkopfgroße Diatomeenmasse (Reinkultur), wird auf den Objektträger gebracht, mit einem Deckglas bedeckt und so viel absoluten Alkohols vom Rande hinzugefügt, daß der Raum zwischen Deckglas und Objektträger vollständig erfüllt ist. Der Alkohol tötet die Diatomeen und die Farbstoffe gehen in Lösung. Wenn man nun den Deckglasrand nach einiger Zeit betrachtet, so merkt man, daß infolge der Verdampfung des Alkohols zunächst goldgelbe Tropfen

und dann etwas später, dem Deckglasrande näher, grüne Tropfen ausgeschieden werden. Es lassen sich dann zwei parallele Schichtensysteme von Tropfen wahrnehmen, gelbe und grüne. Dazwischen können Mischtropfen von gelbgrüner Farbe vorkommen.

Diatomeen werden genau so wie die Braunalgen in 2proz. Salzsäure blau oder blaugrün wegen der Anwesenheit von Leukocyan (vgl. p. 257).

Kohl (II) ist der Ansicht, daß in den Diatomeen kein besonderes braunes Chlorophyll da ist, sondern daß sie ihre Farbe einem Gemenge von gewöhnlichem Chlorophyll, Carotin und Xanthophyll verdanken. Die Experimente, auf Grund welcher die Existenz des Phaeophylls geleugnet wird, können aber einer objektiven Kritik nicht standhalten, da sie z. T. unrichtig sind und den Farbenumschlag von Braun in Grün nicht plausibel erklären. Man erhält keine Aufklärung darüber, wohin der braungelbe Farbstoff beim Farbenumschlag gelangt. Auch ist Kohl den Beweis dafür schuldig geblieben, daß Carotin und Leukocyan identisch sind, da Carotin zwar mit konzentrierter Salzsäure blau wird, aber niemals mit 2proz. Salzsäure. Wenn daher eine Diatomee mit 2proz. Salzsäure eine blaugrüne Farbe annimmt, so kann dies nicht von Carotin herrühren, es muß daher diese auf einen andern Körper zurückgeführt werden.

γ) Bei Neottia.

Wiesner (II) hat zuerst gezeigt, daß die im lebenden Zustande braune Orchidee Neottia nidus avis bei Behandlung mit Alkohol oder Äther grün wird und daß sich aus ihr Chlorophyll gewinnen läßt. In der Tat verhalten sich die Chromatophoren von Neottia wie die von Braunalgen oder Diatomeen, sie zeigen gleichfalls beim raschen Abtöten einen Farbenumschlag von Braun in Grün. Der Umschlag erklärt sich am einfachsten durch die Annahme, daß hier intra vitam gewöhnliches Chlorophyll nicht existiert und dieses erst aus einem braunen Atomkomplex, dem Phaeophyll, im Momente des Todes resultiert (Molisch XIII, 142). Schimper (I, 119) hat die für meine Auffassung äußerst wichtige Tatsache gefunden, daß namentlich in der Fruchtwand der Neottia innerhalb der Chromoplasten braune, nadelförmige Kristalle vorkommen, die aus reinem Farbstoff bestehen. „Nirgendswo zeigt sich eine Spur von Chlorophyll; es ist ganz klar, daß die Grünfärbung, welche die Neottia unter dem Einfluß verschiedener Reagentien annimmt, nicht daher rühren kann, daß das Chlorophyll dem braunen Farbstoff mechanisch beigemengt, von demselben aber verdeckt wäre; eine solche Mischung würde nicht kristallisieren. Die Ergrünung beruht vielmehr entweder auf der Spaltung oder einer sonstigen Modifikation des braunen Pigments.“ Erinnert man sich noch meiner auf p. 248 mitgeteilten Chlorophyllreaktion, mit der es sogar gelingt, gewöhnliches Chlorophyll mit gesättigter Kalilauge in braunes und dieses wieder in grünes zu verwandeln, so erscheint wohl meine Ansicht über das Phaeophyll als Ursache der braunen Färbung bei den Braunalgen, Diatomeen und bei Neottia in hohem Grade gestützt.

Gegen meine Ansicht von der Existenz eines braunen Chlorophylls (Phaeophylls) haben sich jüngst Czapek (III) und Kylin (III,

223) ausgesprochen, ohne aber irgendwelche Gegenbeweise zu bringen und ohne auch den Versuch zu machen, die Blaufärbung der Algen und den Farbenumschlag von Braun und Grün im Momente des Todes zu erklären.

Auch Willstätter (V, 119) nimmt an, daß in den Braunalgen gewöhnliches Chlorophyll vorkomme, aber vermischt mit einem braunen Farbstoff, dem schon erwähnten Fukoxanthin. Demgegenüber hat aber Wilschke (I, 356) mit Recht darauf aufmerksam gemacht, daß nach seinen Untersuchungen mit dem Fluoreszenzmikroskop das Chlorophyll, d. h. die grünen Komponenten der Phaeophyceen, Diatomeen und des Hydrurus sowohl in lebendem als in abgetötetem Zustande vom Chlorophyll der grünen Pflanze verschieden ist, entgegen der Annahme von Willstätter.

Peridineen-Farbstoffe.

Insbesondere durch die Untersuchungen von Klebs (I) und Schütt (I) ist sichergestellt worden, daß die Peridineen Chromatophoren von rötlich-brauner Farbe besitzen, die unter anderem auch dem Chlorophyll sehr nahestehende Farbstoffe führen, und sich hierdurch der Pflanze nähern.

Schütt hat drei Farbstoffe aus marinen Peridineen gewonnen, die er in folgender Weise charakterisiert.

1. Phykopyrrin: braunrot in Wasser löslich; gelb in Alkohol, Äther, Benzol, Schwefelkohlenstoff, Eisessig löslich. Besitzt starkes Absorptionsband im Rot λ 65—68 (Chlorophyllband I), Absorptionsmaximum λ 60—62 (Chlorophyllband II), Endabsorption in Blau.

2. Peridinin: Nicht löslich in Wasser; sehr leicht löslich in Alkohol mit portweinroter Farbe; leicht löslich in Benzol, Äther, Schwefelkohlenstoff und Eisessig, wenig löslich in Benzin. Charakterisiert durch sehr steiles Anwachsen der Absorption in Grüngelb. Schwaches Band in Orange, λ 64. Absorptionsmaximum im Rot zwischen B und C (Band I) ist vorhanden.

3. Peridineen-Chlorophyllin: Nicht löslich in Wasser, löslich in Alkohol, Äther, Benzol, Schwefelkohlenstoff, Eisessig; schwer löslich in Benzin. Besitzt starkes Absorptionsband in Rot (Chlorophyllband I). Ist als ein dem Chlorophyll entweder gleicher oder sehr ähnlicher Farbstoff zu betrachten.

Es ist begreiflich, daß bei den großen Schwierigkeiten, mit denen die Beschaffung größerer Mengen reinen Peridineenmaterials verknüpft ist, die Farbstoffe der Peridineen noch ungenügend erforscht sind. Die makro- und mikrochemische Analyse verspricht hier noch reiche Ausbeute.

Phykoerythrin.

Der für Rotalgen oder Rhodophyceen charakteristische Farbstoff ist das Phykoerythrin (Florideenrot, Rhodospermin). Er findet sich neben Chlorophyll und Carotin in den Chromatophoren und färbt sie, die beiden anderen Farbstoffe vollständig maskierend, in den verschiedensten Nuancen rot.

Herstellung einer Phykoerythrinlösung.

Um den roten Farbstoff aus einer Rotalge, z. B. aus Nitophyllum punctatum zu gewinnen, wird eine größere Menge der lebenden Alge

mit viel destilliertem Wasser unter mehrmaligem Wechsel desselben abgespült. Dabei beginnt die Alge nach einigen Minuten schön orangerot zu fluoreszieren, weil die Zellen absterben und der Farbstoff aus den Chromatophoren allmählich aus — und in den Zellinhalt eintritt. Die gewaschene Alge wird dann mit soviel destilliertem Wasser übergossen, daß sie gerade damit bedeckt erscheint und bei etwa 35° C im Finstern aufgestellt. Es ist zweckmäßig, dem Wasser etwas Schwefelkohlenstoff hinzuzufügen, um das Absterben der Alge zu beschleunigen und die Fäulnis zu hemmen. Nach 24 Stunden ist reichlich Farbstoff ausgetreten; er wird durch Filtration von der Algenmasse getrennt. Die unreine Lösung wird mit gerade so viel absolutem Alkohol versetzt, bis die Fluoreszenz verschwindet. Binnen 24 Stunden fällt alles Phykoerythrin in Form eines ziemlich voluminösen, amorphen Niederschlags heraus. Der abfiltrierte Niederschlag wird nachher in Wasser aufgelöst, mit Alkohol der vollständigen Reinigung wegen abermals gefällt und dann mit Wasser wieder aufgenommen. Auf diese Weise erhält man eine vollständig klare, im durchfallenden Licht prachtvoll karminrote, im auffallenden Lichte stark orange fluoreszierende Flüssigkeit. Ein großer Tropfen davon auf dem Objektträger der Verdampfung ausgesetzt, läßt namentlich am Rande Hunderte von roten Phykoerythrinkristallen zurück (Molisch XV).

Fig. 87.
Phykoerythrinkristalle im Thallus von Nitophyllum punctatum, gewonnen durch Absterbenlassen der Alge im Meerwasser. Vergr. 350.

Kristallisation des Phykoerytrins in der Zelle.

Es gelingt auch leicht, in der Zelle das Phykoerythrin zum Auskristallisieren zu bringen. Wird ein kleines lebendes Thallusstück von Nitophyllum in einen Tropfen einer 10 proz. Kochsalzlösung gebracht, so läßt sich unterm Mikroskop folgendes beobachten: Schon nach ¼ Stunde treten die Chromatophoren unter Aufquellung und Abrundung schärfer hervor, wobei sie im weiteren Verlaufe den roten Farbstoff in den Zellsaft übertreten lassen. In dem Maße als dies geschieht, färbt sich der Zellsaft mehr und mehr karminrot, die Chromatophoren werden aber immer tiefer grün. Nach 1—3 Stunden treten in den Zellen rote Pünktchen auf, bald einzeln, bald zu mehreren bis vielen, die zu verschieden geformten und verschieden großen Kristallen heranwachsen (Fig. 87). Sehr schön gebildete Kristalle findet man auch in Thallusstücken, die im Meerwasser abstarben und dann einige Stunden oder Tage darin liegen blieben. Auch kann man sich reichlich Kristalle verschaffen, wenn man Nitophyllum lebend für wenige Stunden in

destilliertes Wasser legt und die rasch absterbenden und prächtig fluoreszierenden Algen in eine 10 proz. Lösung von Kochsalz, Magnesiumsulfat oder schwefelsaurem Ammonium bringt (Molisch XV, 179).

Eigenschaften der Phykoerythrinkristalle.

Die Kristalle haben die Form hexagonaler, längerer oder kürzerer Prismen. Die optischen Längsschnitte der horizontal liegenden Kristalle erscheinen demnach als Rechtecke. Bisweilen beobachtet man Abstufungen, die auf sehr flache Pyramiden hinweisen. Die Längsschnitte sind doppelbrechend mit gerader Auslöschung, die Hauptachse entspricht der größeren Elastizitätsachse; der Charakter der Doppelbrechung ist somit negativ. Der hexagonale Charakter ist nicht an allen Kristallen deutlich ausgeprägt, da sie häufig abgerundet, nadelförmig oder schollenartig erscheinen. Die größten Kristalle, die ich beobachtete, waren 50 μ lang und 18 μ breit.

Die frisch in Kochsalzlösung gewonnenen Kristalle sind in Wasser leicht löslich, doch kann der Grad der Löslichkeit je nach der Vorbehandlung sehr verschieden sein: alte Kristalle oder solche, die lange Zeit mit Alkohol oder Äther behandelt oder gekocht wurden, büßen ihre Löslichkeit in Wasser ein. In Alkohol, Äther, Benzol, Schwefelkohlenstoff, Olivenöl und Terpentinöl sind sie unlöslich. In gesättigter Kalilauge werden sie intensiv blau oder blaugrün und nach längerer Einwirkung malachitgrün, ohne sich zu lösen. Salzsäure stellt die rote Farbe wieder her, aber nur dann, wenn die Kalilauge nicht zu lange gewirkt hat; im entgegengesetzten Falle nehmen die Kristalle in Salzsäure eine tiefblaue Farbe an. Verdünnte Kalilauge entfärbt unter Aufquellen, ebenso Natronlauge, Barytwasser und konzentriertes Ammoniak. Verdünnte Salzsäure (1 Vol. Salzsäure + 3 Vol. H_2O), verdünnte Schwefelsäure (1 Vol. Schwefelsäure + 6 Vol. H_2O), verdünnte Salpetersäure (1 Vol. Salpetersäure + 6 Vol. H_2O) färben sie mehr violett, Salpetersäure allmählich ziegelrot, ohne sie zu lösen. In den genannten konzentrierten Säuren zerfließen sie rasch. Die Kristalle sind quellbar, speichern Farbstoffe, Jod und geben die Millonsche, die Xanthoproteïnsäure-, die Biuret- und Raspailsche Reaktion, die beiden ersteren deutlich, die beiden letzteren schwach.

Auf Grund der Löslichkeitsverhältnisse der Kristalle, namentlich der leichten Veränderlichkeit der Löslichkeit je nach der Vorbehandlung, auf Grund des Unlöslichwerdens nach plötzlicher Erhitzung auf 100° oder nach längerem Kontakt mit absolutem Alkohol, auf Grund der Aussalzbarkeit mit Kochsalz, Ammoniumsulfat und Magnesiumsulfat, des Quellungsvermögens und der erwähnten Eiweißreaktionen folgt, daß die roten Kristalle, d. h. das Phykoerythrin, eiweißartiger Natur ist (Molisch XV, 181).

Durch konsequente Anwendung der von mir bei der Gewinnung von kristallisiertem Phykoerythrin verwendeten Aussalzungsmethode hat Kylin (I) ebenfalls kristallisiertes Phykoerythrin erhalten, meine Ergebnisse bestätigt und unter anderem dahin erweitert, daß sich das Phykoerythrin aus einer Eiweiß- und einer Farbenkomponente zu-

sammensetzt, welch letztere sich beim Kochen oder bei Zusatz einer geeigneten Menge von Säuren oder Alkalien abspaltet. Kylin (II) konnte zwei Modifikationen des roten Farbstoffes unterscheiden, von denen die eine häufigere sich durch die bekannte orangegelbe Fluoreszenz auszeichnet, während die andere dieser Fluoreszenz ganz oder fast ganz entbehrt.

Phykocyan.

Bei den Cyanophyceen kommen im Zellinhalt drei Farbstoffe vor: Chlorophyll, Carotin und Phykocyan. Dieses ist an dem Zustandekommen der eigenartigen spangrünen, bräunlichen oder rötlichen Färbung vieler Schizophyten in hohem Grade beteiligt.

Gewinnung einer Phykocyanlösung. Größere Mengen der spangrünen Oscillaria leptotricha werden mit destilliertem Wasser rasch gewaschen, in ein kleines Becherglas gebracht, mit wenig destilliertem Wasser versetzt, zur raschen Tötung mit ein paar Tropfen Schwefelkohlenstoff durchgeschüttelt und schließlich einen Tag stehen gelassen. Der Farbstoff geht in Lösung und man erhält eine indigblaue Flüssigkeit von prachtvoll karminroter Fluoreszenz. Fügt man zu der filtrierten Lösung Ammoniumsulfat, und zwar weniger als zur beginnenden Aussalzung genügen würde und läßt dann in einer flachen Kristallisierschale im Finstern bei gewöhnlicher Temperatur verdampfen, so fällt das Phykocan in Form tiefblauer Kristalle heraus, die ebenso wie das Phykoerythrin eiweißartiger Natur sind (Molisch XVI) (Fig. 88).

Fig. 88. Phykocyankristalle aus Oscillaria leptotricha, gewonnen durch Aussalzen. Vergr. 350.

Eigenschaften der Phykocyankristalle.

Ihre Größe schwankt zwischen 5 bis 42 μ. Quellbar, frisch durch Aussalzen gewonnen, lösen sie sich in Wasser, Glyzerin, verdünnten Alkalien, wie Kali-, Natronlauge, ferner in Ammoniak, Barytwasser und Ätzkalklösung. Hingegen sind sie unlöslich in absolutem Alkohol, Äther, Benzol, Schwefelkohlenstoff und verdünnten Säuren. In gesättigter Kalilauge färben sie sich spangrün. Kristalle, die längere Zeit mit Alkohol, verdünnten Säuren oder siedendem Wasser behandelt wurden, büßen ihre Löslichkeit für Wasser ein. Sie geben die Eiweißreaktionen (Molisch XVI).

Es läßt sich leicht nachweisen (Molisch XVII), daß es sicher zum mindesten drei, wahrscheinlich aber noch mehr Phykocyane gibt, die zwar miteinander sehr nahe verwandte Eiweißkörper darstellen, aber durch die Farbe ihrer wässerigen Lösungen, ihre Fluoreszenzfarbe, durch ihre Kristallisationsfähigkeit und ihr spektroskopisches Verhalten sich leicht unterscheiden. So geben alle untersuchten spangrünen Cyanophyceen eine Phykocyanlösung, die im durchfallenden Lichte eine blaue Farbe mit einem Stich ins Grüne aufweist, dagegen im auffallenden Lichte prachtvoll dunkelkarminrot fluoresziert. Ich nenne diesen Körper blaues Phykocyan.

Die anders gefärbten Cyanophyceen von brauner, grünlich-brauner, olivgrüner oder graubrauner Farbe geben violette Phykocyanlösungen

mit venezianischroter, fast ockerartiger oder karminroter Fluoreszenz. Dieses Phykocyan, von dem ich zwei Modifikationen unterscheiden konnte, nannte ich violettes Phykocyan.

Der Farbenunterschied zwischem blauem und violettem Phykocyan ist gewöhnlich in die Augen springend, doch finden sich auch Übergänge vor wie das blauviolette Phykocyan von Oscillaria limosa. Dieser äußeren Verschiedenheit entspricht auch eine deutliche Verschiedenheit der Spektra. So zeigt das blaue Phykocyan nur zwei, das violette hingegen drei (Oscillaria limosa) oder vier (Scytonema Hofmanni) Bänder im Spektrum.

Auch Kylin (II) unterscheidet mehrere Phykocyanmodifikationen: ein blaugrünes, blaues und ein blauviolettes Phykocyan. Er hat auch das Verdienst, bei zahlreichen Rhodophyten neben Phykoerythrin auch Phykocyan nachgewiesen zu haben, so bei Ceramium rubrum, Bangia fuscopurpurea, Batrachospermum-Arten, Chondrus crispus (L.) Lyngb., Dumontia filiformis Grev, Lemanea fluviatilis Ag., Porphyra hiemalis Kylin, P, umbilicalis und anderen (II und IV, 533).

Mit Rücksicht auf die unsichere systematische Stellung der Alge Porphyridium cruentum Naeg. sei erwähnt, daß ich in dieser Alge zwar Phykoerythrin, aber kein Phykocyan nachweisen konnte (Molisch XVII, 808). Sie ist die einzige bisher bekannte Luftalge, die Phykoerythrin enthält und dürfte mit den Bangiales verwandt sein.

Mikrochemisches. Von der Verschiedenheit der Phykocyane kann man sich auch auf mikrochemischem Wege überzeugen. Wenn man einen Rasen einer typisch spangrünen Nostocacee oder Oscillarinee, etwa Anabaena inaequalis Bornet oder Oscillaria leptotricha Kg. in eine mit Eisessig gefüllte Dose einlegt, so nimmt die Alge nach etwa $^1/_4$ Stunde eine schön blaue Farbe an. Die Reaktion ist so zu erklären: Der Eisessig verwandelt das in den Zellen vorhandene Chlorophyll in braunes oder braungrünes Chlorophyllan und löst es samt dem vorhandenen Carotin aus den Zellen so vollständig heraus, daß schließlich von den ursprünglich vorhandenen drei Farbstoffen nurmehr das durch die Essigsäure gefällte und hierdurch unlöslich gewordene Phykocyan in den Fäden zurückbleibt. Daher die blaue Farbe des Rasens. Verwendet man jedoch anstatt einer spangrünen Oscillarie eine braune, grünlich-braune, olivengrüne oder graubraune Oscillarie, z. B. O. Frölichii Kg. oder O. sancta Gom., so gehen dieselben Prozesse vor sich, allein das Räschen nimmt schließlich eine tiefviolette Färbung an. — Macht man diese Versuche unterm Mikroskop, so ist es zweckmäßig, die Alge zunächst durch Abtupfen mit Filtrierpapier von anhängendem Wasser zu befreien, mit einem großen Tropfen Eisessig zu versehen und schließlich mit einem Deckglas zu bedecken. Die Fäden werden zuerst braun, dann blau oder violett, je nachdem man eine spangrüne oder eine braune Oscillarie zum Versuche genommen hat. Mit dem Verdampfen des Eisessigs kristallisiert dann nicht selten in der Umgebung des Deckglasrandes das Chlorophyllan in den charakteristischen locken- oder peitschenartigen Kristallen aus und zwischen den Algenfäden treten gewöhnlich auch noch die orangeroten Schuppen und Plättchen des Carotins aus. Besonders wenn die Fäden in Haufen übereinander liegen, tritt die Phykocyanfarbe deutlich hervor, doch ist sie auch an einzelnen Fäden zu beobachten. Bei

manchen Cyanophyceen, z. B. bei gewissen Gloeocapsa-Arten, scheint allerdings so wenig Phykocyan vorhanden zu sein, daß man von einer entsprechenden Färbung fast nichts sieht.

6. Anthocyane und andere Farbstoffe.

a) Anthocyan.

Dieser namentlich im Bereiche der Phanerogamen weit verbreitete Farbstoff (als Gruppenbegriff gefaßt) kann in den verschiedensten Organen auftreten: in der Blüte, Frucht, im Blatt, Stamm und sogar in der Wurzel (Molisch XIX). Die blauen, violetten und roten Blüten verdanken zumeist dem Anthocyan allein oder wenigstens zum Teil ihre Farbe. Gewöhnlich faßt man mit dem Worte Anthocyan jene roten, violetten oder blauen Farbstoffe zusammen, die gegenüber Säuren und Alkalien ein bestimmtes, gleich zu schilderndes Verhalten zeigen und im Wasser, wasserhaltigen Alkohol löslich, im Äther aber unlöslich sind.

Eigenschaften. Bereitet man eine wässerige Anthocyanlösung aus Rotkraut, die bei gewöhnlicher Zimmertemperatur eine violette Farbe hat und versetzt man diese mit einer verdünnten Säure, so färbt sie sich rot, bei Zusatz von einer sehr geringen Menge eines Alkali blau oder grün und bei Zusatz von mehr Alkali grün bis gelb. Die grüne Farbe wird von Wiesner (III, 392) und Willstätter als eine Mischfarbe von Blau und Gelb gedeutet. Durch Alkalien sich gelb färbende Substanzen sind tatsächlich sehr verbreitet, z. B. Flavonfarbstoffe und die farblose Form des Anthocyans; sie können die Mischfarbe mit dem Blau des Anthocyans hervorrufen. Je nach der sauren oder neutralen Reaktion des anthocyanhaltigen Zellsaftes kann daher die betreffende Zelle oder das ganze Gewebe rot, violett oder blauviolett erscheinen und es kann keinem Zweifel unterliegen, daß die zahlreichen Farbennuancen anthocyanführender Organe unter anderem auf diesem Umstand beruhen. Durch die meisterhaften Untersuchungen Willstätters (VI) und seiner Schüler wurde die noch im Argen liegende Chemie der Anthocyane in hohem Grade gefördert. Indem ich die Eigenschaften dieser Farbstoffe anführe, folge ich Willstätter (VII).

Die Anthocyane haben sich als stickstofffreie, basische Farbstoffe von phenolischem Charakter erwiesen. Sie bilden mit Mineralsäuren und mit organischen Säuren sehr gut kristallisierende Salze, Oxoniumsalze, deren vierwertiger Sauerstoff in ihnen chinoid gebunden angenommen wird, um die stark basischen Eigenschaften zu erklären. Die Verbindungen der Anthocyane mit Säuren sind rot, ihre neutrale Form ist violett und ihre Alkalisalze sind blau.

In den neutralen und besonders in den Alkalisalzlösungen entfärben sich häufig die Anthocyane. Diese Erscheinung beruht aber nicht, wie man vielfach vermutet hat, auf einer Reduktion, sondern auf einer Isomerisation, denn die Farbe kehrt beim Ansäuern wieder. Die Anthocyane haben sich, wie bereits früher auf das bestimmteste vermutet wurde (Molisch XVIII), als stickstoffreie Glykoside erwiesen. Sie werden beim kurzen Erhitzen mit 20proz. Salzsäure vollständig in Zucker und in die eigentlichen Farbstoffkomponenten, die von Willstätter als Anthocyanidine bezeichnet werden, gespalten.

Der in den Blumenblättern der Scharlachpelargonie vorhandene Farbstoff, das Pelargonin, ist mit einer Pflanzensäure verbunden und nach Willstätter ein Diglukosid von der Zusammensetzung $C_{27}H_{30}O_{15}$. Bei kurzem Erwärmen mit Salzsäure zerfällt es in Glukose und in die Farbstoffkomponente Pelargonidin:

$$C_{27}H_{31}O_{15}Cl + 2\,H_2O = 2\,C_6H_{12}O_6 + C_{15}H_{11}O_5Cl.$$

Durch die Feststellung der Glykosidnatur der Anthocyane wird uns nun auch die Tatsache verständlich, daß die Anthocyanbildung durch künstliche Zufuhr von Zucker wesentlich gesteigert wird (Overton I). Die Frage, ob es nur ein Anthocyan oder mehrere gibt, ist von verschiedenen Forschern [Wigand, A. Hansen (I), J. N. C. Müller, Wiesner (III), Nägeli, Schwendener, Weigert (I), Molisch (XVIII), Overton (I), Grafe (I, II u. a.) in verschiedener Weise beantwortet worden.

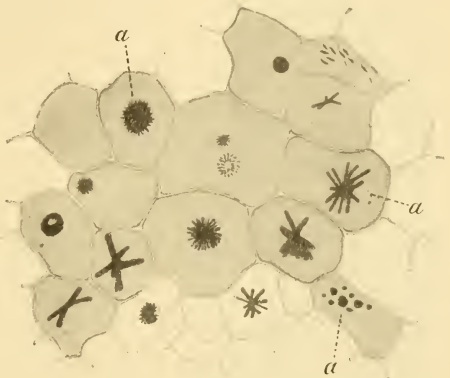


Fig. 89.

Anthocyankristalle vom Rotkraut. Brassica oleracea (capitata). Mesophyll knapp unter der Oberhaut des Blattes. Die Zellen enthalten Körnchen, Prismen, Nadeln und Sphärite *a*. Vergr. 160.

Weigert (I), dessen einschlägige Angaben ich im wesentlichen bestätigen kann, unterscheidet unter den Anthocyanen zwei gut charakterisierte Gruppen, repräsentiert durch das Weinrot (aus Trauben oder Blättern) und das Rübenrot. Er rechnet zur Weinrotgruppe (Vitis, Ampelopsis quinquefolia, Rhus typhina, Cornus sanguinea) alle jene roten Farbstoffe, die mit basischem Bleiacetat blaugraue oder blaugrüne Niederschläge geben, die Erdmannsche Reaktion liefern, mit konzentrierter Salzsäure in der Kälte behandelt, sich heller rot färben und ausgefällt werden und beim Zusatz von Alkalien einen Farbenumschlag ins Grüne zeigen.

Zur Rübenrotgruppe (rote Rübe, Iresine Lindeni, Achyranthes Verschaffelti, Amarantus, Atriplex hortensis (atrosanguinea), Phytolacca decandra) stellt der genannte Autor alle jene Anthocyane, die mit basischem Bleiacetat rote Niederschläge geben, die Erdmannsche Reaktion nicht liefern, sich mit konzentrierter Salzsäure bei gewöhnlicher Temperatur und mit Ammoniak dunkelviolett, mit anderen Basen aber (Kali, Natron, Kalk, Baryt) gelb färben. Bezeichnend für diese Gruppe ist, daß sie in schwach alkalischer Lösung, in welcher Lackmus schon nach Blau umschlägt, ihre rote Farbe noch behalten.

In Unkenntnis der Arbeit Weigerts spricht Overton (I), gestützt auf gelegentliche Beobachtungen, seine Überzeugung dahin aus, „daß z. B. der rote Farbstoff der Amarantus-Arten, der wahrscheinlich mit dem roten Pigment anderer

Amarantaceen und mit denjenigen der roten Varietät der Zuckerrübe identisch ist, mehrfach in seinem Verhalten von dem Farbstoff der meisten roten Säfte abweicht. Ebenso dürfte z. B. das rote Pigment der Kronblätter von Papaver Rhoeas und anderer Papaverarten mit ähnlich gefärbten Blüten von dem Farbstoff der meisten anderen Pflanzen sicher verschieden sein. Ich glaube, daß, wenn man die Zahl der verschiedenen Farbstoffe, welche bei der Rot- und Blaufärbung des Zellsaftes der verschiedenen Blüten, Blätter und Früchte beteiligt sind, auf etwa ein Dutzend schätzt, man diese Zahl eher zu niedrig als zu hoch taxiert."

Fig. 90.
Anthocyankristalle von Begonia maculata Radd. Epidermis oberhalb eines Blattnervs. Vergr. 100.

Ich möchte noch hinzufügen, daß der rote Farbstoff von Dianthus Caryophyllus (gefüllte Gartenhybriden) Eigenschaften aufweist, die auf keine der beiden WEIGERTschen Gruppen vollkommen passen. Der Nelkenfarbstoff ist fast unlöslich in Alkohol, d. h. rote Blüten bleiben in Alkohol rot, an den Alkohol wird kein oder nur sehr wenig Farbstoff abgegeben. Mit wenig Ammoniak oder Kalilauge verändert sich nur wenig die rote Farbe, jedenfalls wird sie nicht blau oder grün. Hierin stimmt der Farbstoff mit der Rübenrotgruppe ziemlich überein; aber während dieser mit basischem Bleiacetat einen roten Niederschlag gibt, entsteht mit dem Nelkenfarbstoff ein grüner.

Mit anderen Worten: Der Begriff Anthocyan stellt kein chemisches Individuum, sondern eine Gruppe von mehreren verschiedenen, wahrscheinlich verwandten Verbindungen dar.

WILLSTÄTTER hat die Einteilung WEIGERTS abgelehnt, indem er geltend macht, daß bei einer so scharfen Abgrenzung sehr verschiedene Pigmente zu einer Gruppe zusammengefaßt werden. Obwohl er die Schwierigkeit einer natürlichen Gruppierung nicht verkennt, versucht er unter den leicht zugänglichen Anthocyanen folgende zu unterscheiden:

1. Anthocyane von Kornblume, Rose, Lathyrus. In sauerer Lösung rot, mit Soda blau, von Bleiacetat blau gefällt; der Farbstoff isomerisiert sich leicht zu einer farblosen Modifikation.

2. Anthocyane der Weintraube, Heidelbeere, des Feldrittersporns. In sauerer Lösung rot, mit Soda blau, Bleisalz blau, der Farbstoff entfärbt sich weniger leicht.

3. Anthocyan des Radieschens. In sauerer Lösung gelblich rot, mit Soda blau, mit Bleiacetat rote Fällung.

4. Anthocyane von Mohn, von Pelargonium. In sauerer Lösung gelbrot (Pelargonie) und blaurot (Mohn); mit Soda violett; durch Isomerisation entfärbt.

5. Anthocyane der Nelke, der Aster. In sauerer Lösung rot, mit Soda in dicker Schicht rot, in dünner blaugrün (Nelke) oder rotviolett bis rotbraun (Aster).

6. Anthocyane der roten Rübe (sowie der Melde). In sauerer Lösung violett, mit Soda rot, Bleisalz rot.

Nachweis.

Das eigentümliche Verhalten des Anthocyans zu Säuren und Alkalien kann sehr gut auch mikrochemisch verwertet werden. Doch ist zu beachten, daß behufs Hervorrufung der Blau- oder Grünfärbung ein Überschuß von Alkali vermieden werden soll, weil sonst nur eine gelbe oder gelbbraune Mißfärbung zustande kommt. Gute Dienste leistet dampfförmiges Ammoniak. Man halte die Schnitte ganz kurze Zeit über den Hals einer Ammoniakflasche. Das Ammoniak dringt sehr rasch in die Zelle ein und ruft verschiedene Farbennuancen zwischen blau und grün hervor. Die Grünfärbung, die Vergißmeinnichtblüten im Tabakrauch annehmen, ist gleichfalls eine, wahrscheinlich durch kohlensaures Ammon und vielleicht noch andere alkalisch reagierende Substanzen bewirkte Anthocyanreaktion. — Die Fällung des Anthocyans durch Bleiacetat kann ebenfalls mikrochemisch verwertet werden.

Amorphes und kristallisiertes Anthocyan. In der Regel kommt das Anthocyan im Zellsaft gelöst vor. Es sind jedoch durch Molisch (XVIII) zahlreiche Fälle bekannt geworden, wo Anthocyan in fester Form, amorph oder kristallisiert auftritt. Es ist dies gewöhnlich bei sehr intensiv gefärbten Pflanzenteilen der Fall; der Zellsaft erscheint mit dem Farbstoff übersättigt und fällt dann in kolloidalen Tropfen, Kugeln oder in fester Form heraus. Namentlich da, wo auf der Blumenkrone dunkle Flecke, Makeln, dunkle Adern auftreten, kann man mit Wahrscheinlichkeit auf konzentrierte Anthocyantropfen oder auf festes Anthocyan rechnen. Einige Beispiele:

a) Rotkraut. In der Epidermis und den knapp darunter liegenden Mesophyllzellen der roten Blätter findet man (bei niederer Temperatur) das Anthocyan gelöst, in Tropfen- oder Kristallformen: Nadeln, Prismen, Sternen und Kristallsand (Fig. 89).

b) Begonia maculata Radd. Der Farbstoff kommt hier nicht selten, besonders in den über die Gefäßbündel streichenden, mehr länglich gestalteten Oberhautzellen der Blattunterseite in tiefroten Kristallen vor: Vierseitige Pyramiden, auch kombiniert mit dem Prisma, daneben verwachsene Kristalle und kleine Drusen (Fig. 90).

c) Pelargonium zonale W. (Scharlachpelargonie). Die brennend roten Blumenblätter enthalten häufig am Rande neben gelöstem Farbstoff auch runde, karminrote bis schwarzviolette Anthocyanballen, nicht selten mit kristallinischer Struktur. Ähnliches findet sich häufig in den tiefrot gefärbten Blumenblättern gefüllter Rosen und den dunkelroten Blüten von Anthirrhinum majus.

d) Kristallisiertes Anthocyan wurde auch noch beobachtet in den gefüllten Blüten von Dianthus Caryophyllus, in den schwarzblauen Beeren einer Vitis-Art, in dem violetten Fleck der Blumenblätter von Anagallis arvensis L. var. ciliata, in den Blüten von Aquilegia atrata hort., Lathyrus heterophyllus L., Cytisus Laburnum, Medicago sativa,

Hedysarum coronarium, Ononis Natrix L., Nemophila sp., Baptisia australis, Erodium Manescari Coss u. a. (Molisch XVIII).

e) Eigenartige Farbstoffausscheidungen zeigen die Blüten verschiedener Delphinium-Arten. Sie wurden von A. Weiss entdeckt, von Zimmermann (I) für Delphinium formosum beschrieben und von Molisch (XVIII, 152) bei D. elatum untersucht. Die azurblauen Kelchblätter enthalten im Zellinhalte sehr merkwürdige, einem feinen Mycel gleichende Ausscheidungen von tiefblauer oder rotvioletter Farbe (Fig. 91).

Die Kristallisation des Anthocyans außerhalb der Zelle (Molisch XVIII, 156). Der Umstand, daß das Anthocyan manchmal schon in der Zelle zu kristallisieren vermag, legte den Gedanken nahe, daß dies auch außerhalb der Zelle gelingen dürfte. Versuche mit Rotkraut, Wein-, Rüben- und Nelkenfarbstoff führten zu negativen, Versuche mit Pelargonium zonale, der Georgine, Rosa, Mahonia und Anemone fulgens führten zu positiven Resultaten.

Fig. 91.
Delphinium elatum. Epithel der azurnen Kelchblätter mit fadenknäuelähnlichem Anthocyan. Vergr. 130.

Pelargonium zonale.

a) Wird ein scharlachrotes Blumenblatt in destilliertem Wasser eingelegt, mit einem Deckglas bedeckt, gequetscht, um den Farbstoffaustritt zu erleichtern, so bildet sich nach und nach eine rote Anthocyanlösung. Beim allmählichen Verdampfen wird sie konzentrierter und nach 12 bis 24 Stunden treten in dem letzten Reste der Lösung unter dem Deckglasrande intensiv rote Nädelchen, sternartige Nadelaggregate, Knollen und endlich Sphärite genau von der Form und Farbe wie in der lebenden Zelle auf. Die Verdampfung muß sehr langsam vor sich gehen. — Bereitet man sich eine konzentrierte wässerige Anthocyanlösung und läßt einen Tropfen auf dem Objektträger verdampfen, so erhält man einen unkristallisierten Rückstand. Fügt man jedoch einen Wassertropfen hinzu, so treten unter dem Deckglas viele schöne Sphärite von Anthocyan auf.

b) Noch zweckmäßiger ist es, den Farbstoff aus Essigsäure (10proz. Salzsäure oder Essigäther) abzuscheiden. Ein etwa 1 cm^2 großes Stück des Blumenblattes wird auf dem Objektträger in Essigsäure eingebettet, mit einem Deckglas bedeckt und unter eine Glasglocke gesetzt, um die Verdampfung zu verlangsamen. Die Essigsäure tötet die Zellen, nimmt den Farbstoff auf und läßt ihn beim Verdampfen namentlich unter dem Deckglasrande in Form von feinen, tief karminroten Nädelchen, Pinseln, Doppelpinseln, Garben, Sternen, Drusen oder Sphäriten ausfallen (Fig. 92).

Die Kristalle zeigen die Reaktionen der in den Blumenblättern vorhandenen Anthocyanballen. Mit verdünntem Ammoniak oder verdünnter Kalilauge lösen sie sich mit blauvioletter, aber nicht mit grüner Farbe, in Wasser lösen sie sich nicht.

Dahlia variabilis.

Ich experimentierte mit einer Hybride mit tief dunkelpurpurnen Korollblättern. Werden größere Stücke davon auf dem Objektträger mit einem Tropfen 20proz. alkoholischer Salzsäure behandelt, rasch mit einem Deckglas bedeckt und nun sich selbst überlassen, so findet man

Fig. 92.

Anthocyankristalle, gewonnen aus einer Lösung des Farbstoffes von Pelargonium zonale in Essigsäure. Vergr. 380.

tagsdarauf, wenn der größte Teil der Flüssigkeit verdampft ist, zum Teil auf dem Gewebe, zum Teil am Deckglasrande mehr oder minder große, im allgemeinen verhältnismäßig sehr große schwarzrote Sphärite des roten Farbstoffs (Fig. 93). Die Sphärite erreichen oft die bedeutende Größe von 120 μ, zeigen mitunter eine Schichtung, einen dunkleren Kern und eine dunklere Hülle, falls die Färbung nicht durchwegs gleichmäßig schwarzrot ist. Mit verdünnter Soda oder Ammoniak werden sie dunkel violett.

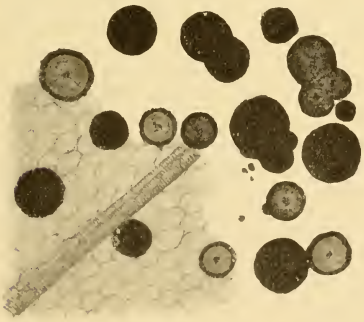


Fig. 93.

Anthocyansphärite, erhalten durch Behandeln der schwarzpurpurnen Blumenblätter der Georgine mit 20proz. Salzsäure. Vergr. 120.

Fig. 94.

Anthocyankristalle *a* in einer Zelle des Fruchtfleisches von Mahonia aquifolium, erhalten mit Pikrinsäure. *c* Chloroplasten. Vergr. 180.

Mahonia aquifolium.

Die Beeren dieses Strauches sind bekanntlich von tief blauschwarzer Farbe. Der Farbstoff findet sich sowohl in der Haut wie in dem Fruchtfleisch. Ein stärkerer Fingerdruck auf die Beeren läßt sofort einen intensiv roten Saft austreten, in dem ziemlich viele rote, lebende

Zellen schwimmen. Behandelt man einen solchen Tropfen am Objektträger mit konzentrierter wässeriger Pikrinsäure und bedeckt mit einem Deckglas, so kristallisiert nach mehreren bis 24 Stunden der Farbstoff wahrscheinlich als Pikrat in kurzen, feinen, intensiv roten Nädelchen oder Nadelsternen heraus, die sowohl im Tropfensaft als auch in den darin suspendierten anthocyanführenden Zellen entstehen können (Fig. 94). Hier haben wir einen Fall, in dem der Farbstoff direkt in der Zelle zur Kristallisation gebracht werden kann.

Die eben geschilderten mikrochemischen Versuche von Molisch, den Farbstoff innerhalb und außerhalb der Pflanze zur Kristallisation zu bringen, wiesen der Makrochemie den richtigen Weg, auf dem es dann Willstätter gelang, zahlreiche Anthocyane in reiner kristallisierter Form und ausreichender Menge zu gewinnen und ihre Chemie in so ausgezeichneter Weise aufzuhellen.

Ein eigentümliches Vorkommen von Anthocyan hat v. Spiess (I) beschrieben. In bestimmten Varietäten von Mais[1]) zeigen die Zellen der Kleberschichte eine schwachblau gefärbte Grundsubstanz in der die zahlreich vorhandenen Aleuronkörner tief dunkelblau tingiert erscheinen. Der Farbstoff verhält sich Säuren und Alkalien gegenüber wie Anthocyan. Es wäre wünschenswert, zu untersuchen, ob nicht in der jungen Zelle der Farbstoff vielleicht doch ursprünglich im Zellsaft gelöst vorkommt und erst später von den Aleuronkörnern aufgenommen wird.

Sehr selten liegt das Anthocyan unter normalen Verhältnissen nicht im Zellsaft, sondern in der Membran. Manche Sphagnum-Arten werden bei starker Besonnung namentlich an den Spitzen intensiv rot. Die Ursache davon ist ein roter Farbstoff, der in den Membranen, hauptsächlich der schmalen Chlorophyllzellen der Blätter, seinen Sitz hat, sich mit Säuren rot, mit Spuren von Alkalien blauviolett färbt, sich also wie Anthocyan verhält.

Die rote Farbe der Samenschale von Abrus precatorius soll nach Nägeli und Schwendener (I, 504) auch von einem in der Membran eingelagerten Anthocyan herrühren.

Sitz. Das Anthocyan kommt gewöhnlich in der Epidermis oder im Parenchym oder in beiden vor und bedingt teils für sich, teils in Verbindung mit grünen, gelben und weißen Gewebepartien in Laubblättern, die bunte Mannigfaltigkeit roter, violetter, brauner und anderer Farbentöne [Hassack (I), Karzel (I), Buscalioni und Pollacci (I)].

b) Anthophaeïn.

Vorkommen.

Ein eigenartiger, brauner Blütenfarbstoff, von Moebius (I) genauer beschrieben und Anthophaeïn genannt, wurde bisher gefunden: in den schwarzen Flecken der Blüte von Vicia Faba L., in den braunen petaloiden Kelchblättern von Delphinium triste, in den Nektarien von Delphinium elatum und D. Donkelari und in der braunen Blüte der Orchidee Coelogyne Massangeana Reichb. fil. Ferner hat Schlockow (I) es nachgewiesen in der Orchideenunterfamilie der Coelogyninae.

1) Ich fand auch eine Maisvarietät mit roten Früchten. Der Farbstoff erscheint im Mikroskop gelbbräunlich, findet sich im Zellinhalt des Perikarps und zeigt weder die Reaktion des Carotins noch des Anthocyans. Die Aleuronkörner der Kleberschichte sind hier ganz farblos.

Alle hierher gehörigen Gattungen besitzen es, mit Ausnahme von Pholidota imbricata. — Wohl zu unterscheiden von Anthophaeïn ist die braune Farbe vieler anderer Blüten, die durch Kombination von Anthocyan mit gelben Chromatophoren zustande kommt.

Eigenschaften. Das Anthophaeïn gibt zwar keine bezeichnenden Reaktionen, ist aber doch als ein eigenartiger, von Anthocyan leicht zu unterscheidender Farbstoff zu erkennen. Er ist in kochendem Wasser löslich, in Alkohol, Äther und Benzin unlöslich. Aus der wässerigen Lösung kann er durch Alkohol gefällt und durch Kochsalz, schwefelsaure Magnesia, Calciumchlorid ausgesalzen werden. Mit Ammoniak tritt keine wesentliche Veränderung ein, durch Säuren wird die Färbung etwas dunkler, durch Essigsäure mehr umbrabraun. Das Anthophaeïn ist im Zellsaft gelöst und färbt ihn braun.

c) Anthochlor.

In verschiedenen Blüten und Früchten kommt ein gelber Farbstoff im Zellsaft gelöst vor, der verschieden benannt wurde und von Prantl (I) den Namen Anthochlor und von Tschirch (III) den Namen Anthoxanthin erhielt. Er findet sich in den gelben Blüten von Primula elatior und P. acaulis, Acacia falcata, Linaria vulgaris, L. tristis, Lotus corniculatus, Centaurea pulcherrima, Cephalaria tartarica, Crocus maesiacus. Nach Courchet (I) in den Blüten von Mesembryanthemum aureum, Verbascum, Anthirrhinum, nach Dennert (I) in den gelben Blüten von Mirabilis longifolia, Calceolaria pinnatifida, Carthamus tinctorius, Limnocharis Humboldtii und anderen und nach Hansen (I, 7) auch in den Zellen der Zitronenschale.

Die Löslichkeitsverhältnisse gleichen im allgemeinen denen des Anthocyans. Die Anthochlore lösen sich in Wasser, in Säuren und Alkalien, häufig mit roter Farbe. Sie sind ferner gut löslich in Äthylalkohol und Essigsäure mit intensiv gelber Farbe, gut löslich in Methylalkohol, hingegen in den meisten organischen Lösungsmitteln wie Äther, Petroläther, Benzol, Chloroform, Schwefelkohlenstoff, Aceton und Anilin unlöslich.

Courchet (I, 361) hat ihn aus den Blüten von Lotus corniculatus in Form ziemlich dicker, gerader Nadeln erhalten. Bezeichnend ist, daß er mit konzentrierter Schwefelsäure sich nicht blau färbt, im Gegensatz zu Carotin. Im einzelnen weichen die im Zellsaft gelösten gelben Farbstoffe voneinander ab, so daß z. B. Prantl den Farbstoff von Papaver alpinum, P. nudicaule und Dahlia variabilis nicht zu Anthochlor stellt. Das Anthochlor von Lotus corniculatus wird nach Courchet mit konzentrierter Schwefelsäure blutrot, das der Zitrone nach Hansen braun. Die gelben, im Zellsaft gelösten Farbstoffe repräsentieren wohl kein chemisches Individuum, sondern wahrscheinlich eine Gruppe mehr oder minder verwandter Substanzen. Ich halte es daher aus praktischen Gründen für passend, vorläufig alle im Zellsaft gelösten gelben Farbstoffe, die sich mit Schwefelsäure nicht blau färben, unter dem Namen Anthochlor zusammenzufassen, bis die Makroanalyse uns die Handhabe zu besserer Unterscheidung der einzelnen Anthochlore geben wird.

Die eingehendsten Untersuchungen über die Verbreitung und die Chemie des Anthochlors verdanken wir Klein (I). Er hat die gelben Blüten von etwa 300 Arten geprüft. 60 enthielten Anthochlor und die übrigen meist Carotin. Charakteristisch ist das Verhalten des Anthochlors gegen konzentrierte Mineralsäuren, besonders gegen Schwefelsäure und ferner gegen Alkalien. Danach kann man nach Klein (I) drei Gruppen unterscheiden.

a) Eine Gruppe, die mit den genannten Reagentien rote Farbentöne gibt, ein Umstand, der vielleicht auf eine chinoide Bindung im Molekül hinweist. So wurde mit der gelben Dahlie ein rotes, in Wasser zersetzliches Kristallisationsprodukt erhalten. Intensiv rote Farbe geben auch Anthirrhinum, Linaria, Acacia und Coreopsis.

b) Eine zweite Gruppe liefert dunkelgelbe bis orangegelbe Farben (Papaver).

c) Eine dritte Gruppe gibt mit Säuren grüne bis braune und mit Alkalien tief-gelbe Kristallisationsprodukte (Verbascum).

Das Anthochlor findet sich stets in der Epidermis der Blütenblätter, jedoch niemals im Mesophyll vor. Gesellt sich zum Anthochlor auch Carotin, so erscheint dieses im Grundgewebe, in der Epidermis aber kommen beide Farbstoffe, und zwar in ein und derselben Zelle vor. Durch Klein wurde es sehr wahrscheinlich gemacht, daß man es in den Anthochloren mit Glykosiden und zwar mit Flavonabkömmlingen zu tun hat, die zu den Anthocyanen nahe Beziehungen haben dürften (Reduktion zu roten Verbindungen mit nascierendem Wasserstoff).

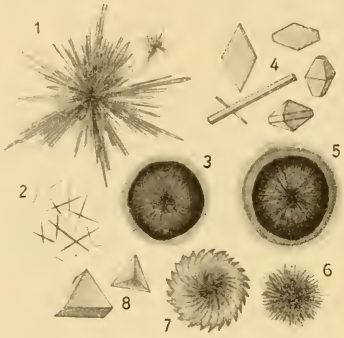


Fig. 95.

Anthochlorkristalle. *1*, *2*, *3*, *6* von Dahlia variabilis. *1* aus konz. Zuckerlösung-Alkohol. *2* und *6* aus Äthylalkohol. *3* aus Aceton. *4* von Linaria vulgaris aus Amylalkohol. *5* von Linaria vulgaris aus Bleiacetat. *7* von Verbascum thapsus aus 40proz. Kalilauge. *8* von Verbascum thapsus aus Alkohol-Ammoniak.

Mikrochemisch konnte Klein Anthochlore kristallisiert direkt unter dem Mikroskope in folgender Weise erhalten (Fig. 95).

Papaver. Wird die schwefelgelbe Partie am Grunde der Korollblätter von P. Kerneri und P. aurantiacum mit Alkohol und Essigsäure oder angesäuertem Wasser behandelt, so kristallisiert der Farbstoff in vielen Zellen sofort in Form gelblicher oder gelbgrüner, wurstförmiger Gebilde oder Stäbchen.

Dahlia. Wenn ein Blütenblattstück der gelben Georgine in einen Tropfen Zuckerlösung eingelegt wird, so tritt Plasmolyse ein und nun erscheinen in Folge des Wasserentzuges in vielen Zellen dunkelgelbe Kugeln oder Nadelsphärite, die sich mit Kalilauge und Schwefelsäure rot färben.

Linaria vulgaris. Die Blüten zeigen nach längerer Einwirkung von Essigsäure Bündel von derben gelben Spießen im Gewebe.

Nach Klein (II) findet sich Anthochlor auch in Früchten (Citrus-Schale), in Blättern und Stengeln (Dahlia, Antirrhinum, Reseda) im herbstlich gelbgefärbten und vergilbten Laub vor. Derselbe Forscher konnte auch zeigen, daß das Helichrysin (Helichrysum) und Safflorgelb (Carthamus tinctorius) zu den Anthochloren gehört und daß beide Farbstoffe zur Kristallisation gebracht werden können.

Schon Nägeli und Schwendener (I, 505) haben auf gewisse Farbstoffe hingewiesen, die nur in der Membran auftreten, und als Beispiele führen sie unter anderen diejenigen an, die bei den Chroococcaceen und Nostocaceen vorkommen. Sie erscheinen in den verschiedensten Nuancen zwischen Gelb und Blau, kommen aber zumeist einerseits in braungelben, andererseits in roten und blauvioletten Tönen vor. Hierher gehören das Gloeocapsin und Sceptonemin, zwei Farbstoffe, die bis heute höchst mangelhaft charakterisiert sind.

d) Gloeocapsin.

Bei einigen Fadenalgen, namentlich bei der Gattung Gloeocapsa, findet sich dieser Farbstoff vor. Er verleiht der Membran eine rote oder blaue Farbe. Er wird durch Kali blau oder blauviolett und durch Salzsäure rot (schön rosenrot, rotorange oder bläulichrot).

e) Scytonemin.

Dieser Farbstoff färbt besonders die Membran vieler fadenförmiger Nostocaceen (Scytonema, Schizosiphon usw.) gelb bis braun. Er wird durch Säuren allmählich grün, durch Alkalien mehr rotbraun, durch Neutralisierung in seiner ursprünglichen Farbe wieder hergestellt. Nach Correns (I) nimmt er mit Chlorzinkjod sowie auch mit Jod und Schwefelsäure eine blauviolette Färbung an, die mit der der entsprechenden Zellulosereaktionen eine große Ähnlichkeit hat.

f) Bixin, $C_{28}H_{34}O_5$ oder $C_{29}H_{34}O_5$.

Bixa Orellana L., ein tropischer Strauch, liefert seit uralter Zeit in der äußeren Schicht der Samenschale den als Annatto oder Orlean bekannten roten Farbstoff. Er wird durch Umrühren der Samen in Wasser gewonnen und dient zum Färben von Butter, Käse, Schokolade, Wachs usw. Das färbende Prinzip ist das Bixin.

Eigenschaften. Braunrote bis hochrote rhombische Kristalle. Nur wenig löslich in den gebräuchlichen organischen Lösungsmitteln. Löslich in Chloroform, besonders im Pyridin und Chinolin. In konzentrierter Schwefelsäure löst er sich mit tiefblauer Farbe. Zum Nachweis kann man die Farbenreaktion mit Schwefelsäure verwenden. Die Epidermiszellen der Samenschale sind mit einer braunroten Masse erfüllt, die das Bixin enthält. Behandelt man diese Zellen mit konzentrierter Schwefelsäure, so tritt — es ist dies nach der Provenienz der Samen verschieden — entweder nur stellenweise Blau- oder Blaugrünfärbung oder nur Schwarzbraunfärbung ein, weil die Bixinreaktion durch die verkohlende Wirkung der Schwefelsäure gedeckt wird. Wird aber der Farbstoff durch Chloroform zuerst in Lösung übergeführt und beim Verdunsten am Deckglasrande in relativ reiner Form abgeschieden, so erhält man damit die Blaufärbung mit Schwefelsäure sehr prompt.

Histochemisches. Als Sitz des Orleanfarbstoffes wird in der Literatur bald das Fruchtfleisch, bald eine in der Frucht vorhandene Pulpa, bald ein Überzug der Samen bezeichnet. Nach den Angaben von Hartwich (II) aber kommt in der Fruchtwand überhaupt kein Orlean vor, noch ist von einem Fruchtfleisch oder einer Pulpa etwas zu sehen.

Der Farbstoff findet sich vielmehr in der äußersten Schichte, d. h. in der Epidermis des Samens (Fig. 96). Die Samenschale zeigt nach HARTWICH auf dem Querschnitte folgende Schichten:

1. Eine einfache Schicht dünnwandiger großer Zellen, die einen roten, unterm Mikroskop rotbraun erscheinenden amorphen, ziemlich homogenen oder splitterigen Inhalt haben. Diese Schicht ist die Epidermis und ist der Sitz des Farbstoffes. Sie ist sehr spröde und löst sich leicht von dem Samen ab.

2. Eine Schicht säulenförmiger Zellen, deren Lumen schmal, fast linienförmig ist.

3. Eine Lage kleiner Zellen mit gelbbraunem Inhalt, der sich mit Eisenchlorid schwärzt.

4. Eine Schicht tangential gepreßter Zellen, an die sich eine Lage sanduhrartiger Zellen anschließt.

5. Zuletzt eine einfache Schicht kleiner Zellen, deren Inhalt sich ebenfalls mit Eisenchlorid schwärzt (Fig. 96).

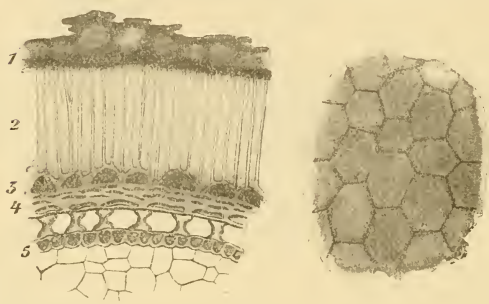


Fig. 96.
Bixa Orellana.
Links, Querschnitt durch die Samenschale. Die oberste Schichte (I) enthält das Bixin. Vergr. 150.
Rechts, die Bixinschichte (I) von oben gesehen, nach Behandlung mit Alkohol. Vergr. 90. Vgl. d. Text.

HARTWICH gibt zwischen den Schichten 1 und 2 noch eine einfache Lage von Zellen an, diese konnte ich aber nicht auffinden.

BLENK (I) fand im Chlorophyllgewebe der Blätter von Bixa große, flach zusammengedrückte Sekretzellen, länglich oder in mehreren Lappen ausgezogen, mit einem gelben oder braunen Harz. Van TIEGHEM (I) sah sie auch in der primären Rinde der Zweige und in der Wurzel. Die Unterseite des Laubblattes erscheint, wie schon mit freiem Auge, noch besser mit der Lupe beobachtet werden kann, ganz besäet mit braunen Pünktchen. Das sind die Sekretzellen. Da ihr Inhalt, wie ich gefunden habe, prompt die Blaufärbung mit konzentrierter Schwefelsäure gibt und sich im wesentlichen auch sonst wie der Inhalt der Samenepidermis verhält, so zweifle ich nicht, daß auch die Sekretbehälter Bixin enthalten. Dieser Farbstoff kommt also nicht bloß in der Samenepidermis, sondern auch in den vegetativen Organen der Pflanze, und zwar scharf lokalisiert vor.

g) Crocin, $C_{44}H_{70}O_{28}$.

Die Blütennarben von Crocus sativus L. var. autumnalis L. (Iridee) liefern das im Haushalte und in der Medizin verwendete, unter dem

Namen Safran bekannte Produkt. Der Safran verdankt seine Verwendung einem Farbstoff, dem Crocin oder Polychroit.

In reinem Zustand stellt der Farbstoff ein gelbes Pulver dar, das sich leicht in Wasser und verdünntem Weingeist, wenig in absolutem Alkohol, nur spurweise in Äther löst. Das Tinktionsvermögen des Crocins muß als ein ganz außerordentliches bezeichnet werden, denn ein Teil Safran färbt nach Hanausek 200000 Teile Wasser noch deutlich. Konzentrierte Schwefelsäure gibt eine tiefblaue Lösung, die nach kurzer Zeit violett, kirschrot und dann braun wird. Salpetersäure färbt momentan blau, aber nur für einen Augenblick, dann wird die Lösung sofort braun. Salzsäure löst den Farbstoff mit gelber Farbe. Er zerfällt beim Erwärmen mit verdünnter Salzsäure in Crocetin und Zucker und ist nach Kayser (I) als Glykosid aufzufassen.

Nach den Untersuchungen von Schüler (I) aber wäre Crocin ein Phytosterinester der Palmitin- und Stearinsäure und den Carotinoiden in dieser Richtung gleich. Gegen Schüler wandte sich Decker (I). Er behauptet, daß der Farbstoff mit den fettsauren Phytosterinestern nichts zu tun hat, wohl aber in naher Beziehung zum ätherischen Safranöl, also zu den Terpenen steht.

Klein (II, 246) spricht sich gegen die Carotin-Natur des Crocinfarbstoffes aus, hauptsächlich weil er ein in Wasser lösliches Glykosid ist und mit Basen Salze bildet. Der Genannte stellt ihn auf Grund seiner Untersuchungen zu den wasserlöslichen Flavonabkömmlingen und konnte ihn auch kristallisieren.

Das Crocin findet sich bei der käuflichen Ware in allen Elementen vor, sowohl im Zellinhalt als in der Wand. In der lebenden Narbe fehlt der Farbstoff nur in den Schraubengefäßen. Bei Untersuchung frischer Narben sieht man, daß der Farbstoff im Zellsaft gelöst vorkommt und ihn gleichmäßig tingiert. Es macht zwar oft den Eindruck, als ob auch das Plasma gefärbt wäre, allein an dünnen Schnitten erweisen sich Plasma und Kern farblos. Nach dem Absterben der Narben hört diese räumliche Trennung des Farbstoffes auf, und dieser tritt dann ins Plasma und in die Wand ein. — Die oben angeführte Eigenschaft des Crocins, sich mit Schwefelsäure blauviolett zu färben, läßt sich auch mikroskopisch demonstrieren (Molisch XX), wenn man die zerbröckelte Narbe (Handelsware) in einem Wassertröpfchen etwa 5—10 Minuten liegen läßt, bis sich eine stark gelb gefärbte Lösung gebildet hat, und dann rasch einen großen Tropfen konzentrierte Schwefelsäure hinzufügt. Der Tropfen färbt sich dann momentan blau bis blauviolett.. Daß diese Färbung eine dem Crocin nicht ausschließlich eigentümliche, sondern bekanntlich dem Bixin und den (allerdings in Wasser nicht löslichen) Carotinen zukommt, soll nur nebenher erwähnt werden (Molisch XX).

Crocetin gibt mit Anilin ein gut kristallisierendes Salz und darauf beruht eine von Tunmann (V) vorgeschlagene Probe des Crocetinnachweises. Wird Safranpulver unterm Deckglas in Anilin bis zur Blasenbildung 2—3 Minuten erwärmt, so entstehen in 10—12 Stunden dunkelrote, in Rotbraun polarisierende, bis 70 μ große Sphärite von Anilin-Crocetin. Von Carotinen kennt man diese Reaktion bisher nicht.

Verbreitung. Abgesehen von Crocus-Arten kommt Crocin noch in den chinesischen Gelbschoten, d. h. den getrockneten Früchten

mehrerer Gardenia-Arten und angeblich auch in der Scrophularinee Fabiana indica vor.

h) Curcumin.

Vorkommen.

Im Wurzelstock verschiedener, zu den Zingiberaceen gehörigen Curcuma-Arten, namentlich der C. Longa L. finden sich in dem Stärkeparenchym eingestreut Sekret-(Ölharz-)zellen, die in der Droge ein orangegelbes oder orangebraunes ätherisches Öl oder einen Harzklumpen enthalten. Ursprünglich führen sie nach Vogl (I, 511) ganz allein neben farblosem Öl den charakteristischen gelben Farbstoff, das Curcumin. Beim Abbrühen und Trocknen des Rhizoms diffundiert der Farbstoff in die Umgebung und färbt daher in der Droge alle Teile, insbesondere das Plasma der Zellen, gelb.

Eigenschaften. Nach Daube (I) kristallisiert das Curcumin anscheinend in orthorhombischen Prismen, die bei durchfallendem Licht in tief wein- bis bernsteingelber, bei auffallendem in orangegelber Farbe mit Perl- bis Diamantglanz erscheinen. In Wasser kaum löslich, besser in Chloroform, Alkohol und Äther, weniger in Benzol und Schwefelkohlenstoff. Konzentrierte Mineralsäuren nehmen ihn mit intensiv roter Farbe, aber nicht unverändert auf, Alkalien lösen leicht mit lebhaft rotbrauner Farbe. — Die nicht alkalische weingeistige Lösung fluoresziert schön grün, die alkalische rot. Das mit dem Farbstoff getränkte Papier (Curcumapapier) dient bekanntlich als Indikator, denn es nimmt durch Alkalien eine braunrote, beim Trocknen in Violett übergehende Färbung an, die durch Säuren wieder in Gelb übergeführt wird. Mit Borsäure gibt Curcumapapier beim Trocknen eine orangerote Färbung, die durch verdünnte Alkalien in Blau, durch Säuren aber nicht verändert wird.

Histochemisches. Nach Herrmann (I, 24) finden sich in dem Grundgewebsparenchym des frischen Rhizoms (Curcuma amata) neben Stärkekörnern zahlreiche verschieden große Tröpfchen ätherischen Öles vor, die farblos bis intensiv gelb erscheinen. Die gefärbten Tröpfchen nehmen mit konzentrierter Schwefelsäure eine karmoisinrote Farbe an. Diese Reaktion rührt von Curcumin her, das in einem farblosen Öl gelöst ist. Auch Rosoll (I) bediente sich, augenscheinlich ohne die Arbeit Herrmanns zu kennen, der Schwefelsäure und der Alkalien zum Nachweis des Farbstoffes im Gewebe. Abgesehen von den Alkalien und der Schwefelsäure konnte ich auch Salzsäure, die Curcumin intensiv rot färbt, gut verwenden, hingegen erhielt ich im Gegensatz zu Herrmann mit essigsaurem Blei weder mit der Droge noch mit frischem Material (Curcuma Zerumbet Rosz.) einen ziegelroten Niederschlag.

i) Helichrysin.

Die gelben Hüllblätter gewisser Strohblumen, wie z. B. des Helichrysum bracteatum Willd. (var. monstrosum), besitzen einen eigenartigen gelben Farbstoff, den Rosoll (II) untersucht und Helichrysin genannt hat. Diese Strohblume wird schon lange von den Gärtnern mit Borax und verdünnter Salzsäure gefärbt; ihre Involukralblätter nehmen in diesem Gemisch eine lebhafte, schön rubinrote Farbe an und werden in diesem gefärbten Zustande für Immortellenkränze verwendet.

Eigenschaften. In Wasser, Weingeist, Alkohol, organischen Säuren löslich, in Benzol, Chloroform und Schwefelkohlenstoff unlöslich. Der Farbstoff wird sowohl durch Alkalien als auch durch Mineralsäuren purpurrot gefärbt, von Metalloxyden und deren Salzen im Extrakt mit roter Farbe gefällt, in alkalischer Lösung von Natriumamalgam und schwefliger Säure stark reduziert und gehört nach Klein (I, 49, II, 240) in die Anthochlorgruppe.

Vorkommen und Sitz.

Das Helichrysin kommt, abgesehen von Helichrysum bracteatum, auch bei H. arenarium DC., H. orientale L., H. foetidum Cass. und H. hebelepis DC. und bei Statice Bonduelli Stestib. vor. Es ist in den jungen Blättchen an das Plasma und in den älteren, wo das Plasma bereits aufgebraucht ist, an die Zellwand gebunden.

j) Serratulin.

Serratula tinctoria, die Färberscharte, ist eine zu den Kompositen gehörige, alte Färbepflanze, die, wie aus übereinstimmenden Angaben der älteren und neueren Literatur hervorgeht, einen gelben Farbstoff, das Serratulin, enthalten soll. Die Pflanze wurde früher zum Gelbfärben und zur Darstellung des Schüttgelbs verwendet.

Wie Molisch gezeigt hat, beruht aber die herrschende Ansicht, wonach Serratula schon in vivo einen gelben Farbstoff führen soll, auf einem Irrtum. Die lebende Pflanze besitzt in ihren Zellen eine farblose Substanz, das Serratulan, das erst postmortal unter der Einwirkung gewisser Stoffe (Alkalien usw.) einen intensiv gelben Körper, das Serratulin liefert. Das Serratulan kommt in der Wurzel, im Stamme und besonders reichlich im Laubblatte vor (Molisch XXI).

Anhang.

Luteofilin.

In dem aus dem verwundeten Blatte von Clivia nobilis hort. ausfließenden Schleim schießen schon nach wenigen Minuten unter Deckglas Hunderte von Sphärokristallen an, die einem neuen, von mir Luteofilin genannten Körper angehören (Molisch III, 94).

Die Sphärite sind löslich in Wasser, hingegen unlöslich in absolutem Alkohol, Äther und Benzol. Konzentrierte Salzsäure bringt die Kristalle rasch zum Verschwinden und erzeugt aus ihnen eine kristallinische Masse oder regelmäßige, knollige Sphärite. Bemerkenswert ist das Verhalten zu Kalilauge. Bei Einwirkung einer etwa 20proz. Kaliumhydroxydlösung entsteht unterm Deckglas unter gleichzeitigem allmählichen Verschwinden der Sphärite ein kanariengelber, kristallinischer Brei. In der Nähe der Sphärite bilden sich ellipsoidische, kugelrunde, etwas weiter wurzel- oder rübenartige Kristalle und in weiterer Entfernung entweder gelbe, amorphe, körnige Niederschläge oder höchst eigenartige haarartige Bildungen, eine Art Filz von geschlängelten,

oft außerordentlich feinen gelben Fäden, die lebhaft an ein Pilzmycelium erinnern. Sie erscheinen im durchfallenden Lichte kanariengelb und besonders die haarartigen in auffallendem Lichte, namentlich gegen einen schwarzen Hintergrund betrachtet (infolge von Fluoreszenz) blau. Natronlauge und Ammoniak geben die eben besprochene „Filzreaktion“ nicht. Die Sphärite geben nicht die Magnesia- und auch nicht die Phosphorsäurereaktion. Da sie auf Zusatz von *a*-Naphthol und konzentrierter Schwefelsäure keine Violettfärbung, also keine Zucker-(Furfurol)Reaktion geben, so möchte ich nach all meinen Erfahrungen den Schluß ziehen, daß die Sphärite aus einer organischen Substanz bestehen, die weder zu den Kohlehydraten noch zu den Glykosiden gehört. Das Luteofilin ist nicht auf Clivia beschränkt. Ich konnte es bei zahlreichen Amaryllideae, Liliaceae, Gramineae, bei einer Commelinee (Dichorisandra ovata hort.) und sogar auch bei Dicotylen, nämlich bei den beiden Lobeliaceen Centropogon Luciani und Lobelia inflata (im Milchsaft) konstatieren (Molisch III, 99).

Chromogen in Schenckia.

Ein auffallendes Chromogen entdeckte Molisch (XXIV) bei der in Brasilien vorkommenden Rubiacee Schenckia blumenaviana. Die Blätter dieser Pflanze erscheinen dunkelgrün. Stirbt aber ein Stengel oder ein Blatt ab, so färben sich beide rot. Wird ein Blatt gequetscht oder mit dem Fingernagel geritzt, so tritt nach 1—2 Tagen Rotfärbung an der Wundstelle ein. Bringt man einen beblätterten Zweig in eine Chloroform-Atmosphäre, so tritt nach einiger Zeit, wenn die Organe absterben, die Rötung ein. Nach etwa 6 Stunden hat die Rötung den höchsten Grad erreicht. Legt man einen nunmehr geröteten Zweig in absoluten Alkohol, so geht das Chlorophyll in Lösung und man erhält ein prachtvolles Dauerpräparat, das die Verteilung des roten Farbstoffes in allen Teilen in höchst anschaulicher Weise erkennen läßt. Die Wurzel zeigt in Chloroformdampf postmortal die Rotfärbung besonders schön. Auch wenn ein lebender Zweig in 20proz. Alkohol eingetaucht wird, entsteht gleichfalls der rote Farbstoff und die Flüssigkeit fluoresziert schön blau.

Eine bestimmte Lokalisierung des roten Farbstoffes konnte in den Organen nicht nachgewiesen werden. Er findet sich sowohl in der Wurzel, dem Blatt, dem Stamm als auch in der Blüte und tingiert nicht bloß den Inhalt der Zelle, sondern auch deren Wand. Ob auch schon das Chromogen die gleichmäßige Verteilung zeigt, bleibt zweifelhaft. Die Natur des Farbstoffes konnte aus den Reaktionen bisher nicht erschlossen werden, doch läßt sich jetzt schon sagen, daß das Chromogen nicht Rubian (Ruberythrinsäure) ist und daß der rote Farbstoff weder mit Alizarin noch mit Purpurin, noch mit einem derzeit bekannten roten Pflanzenfarbstoff (Anthokyan, Phykoerythrin usw.) zu identifizieren ist.

Chromogen in Eupatorium adenophorum.

Schon vor mehr als 30 Jahren machte ich die bisher noch nicht veröffentlichte Beobachtung, daß Eupatorium adenophorum ein farbloses Chromogen enthält, das beim Absterben der Zellen einen grünen Farbstoff erscheinen läßt.

1. Wird ein Tropfen Saft aus dem jungen, weichen, noch nicht ausgewachsenen Stengel, etwa aus dem 2. bis 4. Internodium von der Spitze gerechnet, ausgepreßt, so färbt sich der ursprünglich fast farblose Saft nach 1 Minute vorübergehend

deutlich grün. Breitet man den frischen Tropfen in sehr dünner Schicht rasch aus, so daß er in kurzer Zeit eintrocknet, so bleibt der inzwischen eingetrocknete Rückstand in seiner grünen Farbe erhalten.

2. Wird ein frischer Querschnitt durch den jungen Stengel im Mikroskop betrachtet, so färben sich die Markzellen und die unter der Oberhaut und dem Kollenchym liegenden Zellen der primären Rinde deutlich grün. Die Farbe wird intensiver und bleibt länger erhalten, wenn man den frischen Schnitt rasch mit einem Tropfen abs. Alkohol bedeckt. Ähnlich wie der Stengel verhalten sich junge Blattstiele. Der grüne Farbstoff ist nicht Chlorogensäure.

Die schwarze Farbe.

Manche Pflanzen und Pflanzenteile sind durch eine schwarze Färbung ausgezeichnet. Die Ursache kann ein schwarzer Körper sein, in sehr vielen Fällen kommt aber die schwarze Farbe durch konzentriertes Anthocyan oder eine Kombination von Anthocyan und Chlorophyll oder braunen Farbstoffen zustande. Moebius (II) hat diesen Gegenstand ausführlich untersucht, aus der Fülle von Beispielen können jedoch hier nur einige wenige angeführt werden.

Manche Cyanophyceen erscheinen dem freien Auge schwarz, obwohl sie blauviolettes Phykocyan enthalten. So verdanken die schwarzen Felsen von Angola in Südafrika ihre Farbe der Blaualge Scytonema myochrous v. chorographica.

Die Blumenblätter der tiefschwarzen Gartenvarietät von Viola tricolor enthalten konzentriertes Anthocyan.

Mitunter tritt Anthocyan in Kombination mit Chlorophyll, wodurch ganz auffallend dunkle Färbungen erzielt werden. So bei den schwarzen Flecken auf den Laubblättern von Arum maculatum, bei den schwarzen Beeren von Ribes nigrum und den schwarzen Nektarien auf den Stipulae von Vicia faba. In all den angeführten Fällen liegt der Farbstoff im Zellinhalt, er kann aber auch ausschließlich in der Zellhaut liegen: schwarze Farbe der Brakteen von Carex- und Luzula-Arten, schwarze Spitzen der Equisetum-Blätter, Fruchtschale von Chamaedorea-Arten, Samenschale von Nigella sativa, gewisse Pilze, Flechten usw. Über die durch Antophaeïn und durch Phytomelane hervorgerufenen Schwarzfärbungen vergleiche p. 270.

Literatur

zu p. 205 bis 279.

Baccarini, P., I. Sopra la presenza di Indolo nei fiori di alcune piante. (Bull. Soc. bot. ital, 1910. p. 96 u. 1911, p. 105; Ref.: Bot. Zbl. 1912, Bd. CXX, p. 238.

Bachmann, E., I. Über nichtkristallisierte Flechtenfarbstoffe usw. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1890, Bd. XXI, p. 1.)

—, II. Mikrochemische Reaktionen auf Flechtenstoffe als Hilfsmittel zum Bestimmen von Flechten. (Ztschr. f. wiss. Mikroskopie 1886, Bd. III, p. 216.)

—, III. Mikrochemische Reaktionen auf Flechtenstoffe. (Flora 1887, p. 291.)

—, IV. Emodin in Nephroma lusitanica. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1887, p. 192.)

Beyerinck, M. W., I. Kon. Akad. Wetensch. Amsterdam; Repz. from Proc. meet. Saturday, Sept. 30, 1899, March 31, 1900, Juni 1900.

—, II. Further researches on the formation of Indigo from the Woad (Isatis tinctoria). Kon. Akad. Wetensch. Amsterdam. August 1900, p. 101.

—, II. On the formation of Indigo from the Woad (Isatis tinctoria). Ebenda 1899, Okt. 25.)

Beyerinck, M. W., IV. On Indigo-fermentation. Ebenda 1900, April 25.
Blenk, P., I. Über die durchsichtigen Punkte in den Blättern. (Flora 1884, p. 107.)
Borodin, J., I. Über Chlorophyllkristalle. (Bot. Ztg. 1882, Jahrg. 40, p. 608.)
Borčšow, El., I. Beitr. z. Histochemie der Pflanze. (Bot. Ztg. 1874.)
Buscalioni, L. und Pollacci, G., I. Le antocyanine ed il loro significato biologico nelle piante. (Atti dell'ist. bot. dell'universita di Pavia 1903, Milano.)
Combes, R., I. Recherches sur la formation des pigments anthocyaniques. (Compt. rend. 1911, T. CLIII, p. 886.)
Correns, C., I. Über Dickenwachstum durch Intussuszeption bei einigen Algenmembranen. (Flora 1889, p. 327.)
Courchet, M., I. Recherches sur les chromoleucites. (Ann. des scienc. nat. 7. sér. Botanique 1888, T. VII, p. 361 u. 362.)
Czapek, F., I. Biochemie der Pflanzen, 1905, Bd. II, p. 534.
—, II. Über Orseillegärung. (Zbl. f. Bakt. 1898, 2. Abt., Bd. IV, p. 49.)
—, III. Über die Farbstoffe der Fucaceen. (Lotos. Bd. LIX, Prag 1911.)
Daube, I. Berl. Ber. 1870, p. 609.
Decaisne, I. Recherches anatomiques et physiol. sur le garance etc. Bruxelles 1837.
Decker, F., Beiträge zur Kenntnis des Crocetins. (Arch. d. Pharmacie 1914, p. 139.)
Dennert, E., I. Anatomie und Chemie des Blumenblattes. (Bot. Zbl. 1889, Bd. XXXVIII, p. 430.)
Ehrlich, I. Deutsche med. Wochenschr. 1901 (Aprilheft).
Eriksson, E., I. Über die Alkannawurzel und die Entstehung des Farbstoffes in derselben. (Ber. d. Deutsch. pharm. Ges. 1910, Jahrg. 20, p. 202.)
Fünfstück, M., I. Lichenes (Flechten). (In Engler-Prantl, Die natürl. Pflanzenfamilien, Leipzig 1907, I. Teil, Abt. I., p. 1.)
Gaidukov, N., I. Über das Chrysochrom. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1900, Bd. XVIII, p. 331.)
Gnezda, J., I. Comptes rend. 1899, T. CXXVIII, p. 1584.
Goldschmiedt, Gu. und Zerner, E., I. Über das Scutellarin. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1910, Abt. IIb, Bd. CXIX, p. 327.)
Grafe, V., I, Studien über das Anthocyan. I., II. und III. Mitt. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1906, 1909 und 1911.)
—, Einführung in die Biochemie 1913. Leipzig und Wien.
Hansen, A., I. Die Farbstoffe der Blüten und Früchte. (Verh. d. phys.-med. Ges. zu Würzburg. N. F. Bd. XVIII, Nr. 7.)
Hartwich, I. Realenzyklopädie d. ges. Pharm.
—, II. Über den Orlean. (Archiv d. Pharm. 1890, Bd. CCVIII, p. 415.)
Hassack, C., I. Untersuchungen über den anatomischen Bau bunter Laubblätter usw. (Bot. Zbl. 1886, p. 84.)
Herrmann, O., I. Nachweis einiger organischer Verbindungen in den vegetabilen Geweben. Inaug.-Diss. Leipzig 1876.
Hesse, O., I. Die Flechtenstoffe. (In Abderhaldens Biochem. Handlexikon 1910. Bd. VII, I. Hälfte, p. 32.) Vgl. ferner Journ. f. prakt. Chemie 1898, 58, p. 439; 1902, 65, p. 557; 1907, 76, p. 38.
Holmes, E., I. Diss. Erlangen 1896.
Karzel, R., I. Beiträge zur Kenntnis des Anthocyans in Blüten. (Österr. bot. Ztschr. 1906, Nr. 9.)
Kayser, R., I. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 1884, Bd. XVII, p. 2228.

Klebs, G., I. Ein kleiner Beitrag zur Kenntnis der Peridineen. (Bot. Ztg. 1884, p. 721.)
Klein, G., I. Studien über das Anthochlor. I. Mitt. (Sitzungsber. d. Akad. d. Wiss. in Wien 1920, Abt. I., Bd. CXXIX.)
—, II. Studien über das Anthochlor. II. (Ebenda 1921, p. 234.)
—, III. Der histochemische Nachweis der Flavone. (Ebenda 1922, p. 23—46.)
Kohl, F. G., I. Untersuchungen über das Carotin und seine physiologische Bedeutung in der Pflanze. Leipzig 1902.
—, II. Die Farbstoffe der Diatomeen-Chromatophoren. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1906, Bd. XIV, p. 124.)
Krasser, F., I. Flechten. (In Wiesners „Die Rohstoffe des Pflanzenreichs 1900, 2. Aufl., Bd. I, p. 654.)
Kylin, H., I. Über Phykoerythrin und Phykocyan bei Ceramium rubrum (Huds.) Ag. (Hoppe Seylers Ztschr. f. physiol. Chemie 1910, Bd. LXIX, p. 169.)
—, II. Über die roten und blauen Farbstoffe der Algen. (Ebenda 1912, Bd. LXXVI, p. 396.)
—, III. Über die Farbstoffe der Fucoideen. (Ebenda 1912, Bd. LXXXII.)
—, IV. Über die Farbe der Florideen und Cyanophyceen. (Svensk Botanisk Tidskrift 1912, Bd. VI, H. 3, p. 533.)
Leake, H. M., I. The localisation of the Indigo-producing Substance in Indigo-yielding Plants. (Annals of Botany 1905, Vol. XIX, p. 297.)
Lehmann, K. B. und Neumann, R. O., I. Atlas und Grundriß der Bakteriologie usw. 1907, 2. Teil, 4. Aufl., p. 77.
Liebaldt, E., I. Über die Wirkung wässeriger Lösungen oberflächenaktiver Substanzen auf die Chlorophyllkörner. (Ztschr. f. Bot. 1913, Jahrg. 5, p. 65.)
Marchlewski, L., I. Die Chemie der Chlorophylle. Braunschweig 1909.
Meyer, A., I. Das Chlorophyllkorn usw. Leipzig 1883.
Mitlacher, W., I. Zur Mikrochemie einiger Emodindrogen. (Pharm. Praxis 1906, 5. Jahrg., p. 433.)
Moebius, M., I. Das Anthophaeïn, der braune Blütenfarbstoff. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1900, Bd. XVIII, p. 341.)
—, II. Die Entstehung der schwarzen Färbung bei den Pflanzen. Ebenda.
Molisch, H., I. Die Purpurbakterien nach neuen Untersuchungen. Jena 1907, p. 74.
— und Goldschmiedt, Gu., II. Über das Scutellarin, einen neuen Körper bei Scutellaria und anderen Labiaten. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1901, Bd. CX, Abt. I, p. 185.)
—, III. Studien über den Milchsaft und Schleimsaft der Pflanzen. Jena 1901, p. 107.
—, IV. Das Vorkommen und der Nachweis des Indicans in der Pflanze nebst Beobachtungen über ein neues Chromogen. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1893, Bd. CII, Abt. I, p. 269.)
—, V. Indigo. (In Wiesners „Rohstoffe des Pflanzenreichs usw." 1903, 2. Aufl., Bd. I, p. 423.)
—, VI. Botanische Beobachtungen auf Java. I. Über die sog. Indigogärung und neue Indigopflanzen. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1898, Bd. CVII, Abt. I, p. 773.)
—, VII. Botanische Beobachtungen auf Java. IV. Über Pseudoindican, ein neues Chromogen in den Cystolithen von Acanthaceen. (Ebenda 1899, Bd. CVIII, Abt. I, p. 479.)
—, VIII. Über das Vorkommen von Indican im Chlorophyllkorn der Indicanpflanzen (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1899, Bd. XVII.)

Molisch, H., IX. Eine neue mikrochemische Reaktion auf Chlorophyll. (Ebenda 1896, Bd. XIV, p. 16.)
—, X. Die Pflanze in ihren Beziehungen zum Eisen. Jena 1892, p. 81.
—, XI. Die Kristallisation und der Nachweis des Xanthophylls (Carotins) im Blatte. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1896, p. 27—28.)
—, XII. Über vorübergehende Rotfärbung der Chlorophyllkörner in Laubblättern. (Ebenda 1902, Bd. XX, p. 442.)
—, XIII. Über den braunen Farbstoff der Phaeophyceen und Diatomeen. (Bot. Ztg. 1905, p. 131.)
—, XIV. Erwiderung auf die Kritik M. Tswetts. (Ebenda p. 369.)
—, XV. Das Phykoerythrin, seine Kristallisierbarkeit und chemische Natur. (Ebenda 1894, p. 177.)
—, XVI. Das Phykocyan, ein kristallisierbarer Eiweißkörper. (Ebenda 1895, p. 131.)
—, XVII. Untersuchungen über das Phykocyan. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1906, Bd. CXV, Abt. I, p. 795.)
—, XVIII. Über amorphes und kristallisiertes Anthocyan. (Bot. Ztg. 1905, p. 159.)
—, XIX. Blattgrün und Blumenblau. (Vorträge d. Vereins z. Verbreitung naturw. Kennt. in Wien 1890, 30. Jahrg., p. 21.)
—, XX. Grundriß einer Histochemie der pflanzlichen Genußmittel. Jena 1891, p. 57.
—, XXI. Beitr. z. Mikroch. Nr. 7: Über das Serratulin. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1916, Bd. XXXIV, p. 554.)
—, XXII. Über organische, kristallisierende Stoffe in Gentiana germanica Willd. (Ebenda 1917, Bd. XXXV, p. 653.)
—, XXIII. Kristallisiertes Carotin in der Nebenkrone von Narcissus poeticus. (Ebenda 1918, Bd. XXXVI, p. 281.)
—, XXIV. Über ein neues, einen karminroten Farbstoff erzeugendes Chromogen bei Schenckia blumenaviana K. Sch. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1901, p. 149.)
Müller, H., I. Der Nachweis und die Verbreitung des Rhinanthins (Pseudoindicans). (Monatshefte der Pharmazeut. Post 1922.)
Nadson, G., I. Über die Pigmente der Pilze. (Arbeiten d. St. Petersburger Naturf.-Ges., Abt. f. Bot. 1891, p. 132.)
Naegeli, C. und Schwendener, S., I. Das Mikroskop usw., 2. Aufl. Leipzig 1877.
Nestler, A., I. Zur Kenntnis des Rhinanthocyans. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1920, p. 117.
Norton, I. Americ. Journ. of Pharm. 1898, p. 346.
Oesterle, O. A., I. Archiv d. Pharm. 1903, Bd. CCXLI, p. 604.
—, II. Beitr. z. Kenntnis d. Aloins. (Ebenda 1899, Bd. CCXXXVII, p. 81.
— und Tisza, E., III. Zur Kenntnis des Morindins. (Arch. d. Pharm. 1907, p. 534, und 1908, p. 150.
Overton, E., I. Beobachtungen und Versuche über das Auftreten von rotem Zellsaft bei Pflanzen. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1899, Bd. XXXIII, p. 323.)
Pedersen, G., I. Beiträge zur Kenntnis des Aloë. (Archiv d. Pharm. 1898, Bd. CCXXXVI, p. 200.)
Portheim, L. v. und Scholl, E., I. Untersuchungen über die Bildung und den Chemismus von Anthocyanen. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1908, Bd. XXVIa, p. 480.)
Prantl, K., I. Notiz über einen neuen Blütenfarbstoff. (Bot. Zbl. 1871, Jahrg. 29, p. 425.)
Pringsheim, N., I. Über Lichtwirkung und Chlorophyllfunktion in der Pflanze. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1879—1881, Bd. XII, p. 295.)

Prollius, F., I. Über Bau und Inhalt der Aloïneenblätter, Stämme und Wurzeln. (Archiv d. Pharm. 1884.)
Pulitzer, G., I. Über die Verbreitung des Alkannins bei den Borragineen und sein Auftreten in der Pflanze. (Österr. bot. Ztschr. 1915, p. 177.)
Rosoll, A. I. Über den mikrochemischen Nachweis des Curcumins und Coniins in den veg. Geweben. (29. Jahresb. d. niederösterr. Landes-Ober-Realschule in Wiener-Neustadt 1894, p. 4.)
—, II. Beiträge zur Histochemie der Pflanze. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1884, Bd. LXXXIX, Abt. I, p. 137.)
Rothert, W., I. Über Chromoplasten in vegetativen Organen. (Extr. d. Bull. de l'acad. d. scienc. de Cracovie 1911, p. 189.)
Rupe und Altenburg, I. In Abderhaldens „Biochem. Hand-Lexikon" 1911 Bd. VI, p. 89.)
Russel, W., I. Recherches expérimentales sur les principes actifs de la garance. (Revue génér. de Bot., Paris 1905, T. XVII, p. 254.)
Sack, J., I. Pharm. Weekbl. 1911, 48, Nr. 13.
Schimper, A. F. W., I. Untersuchungen über die Chlorophyllkörner usw. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1885, Bd. XVI.)
Schlokow, A., I. Zur Anatomie der braunen Blüten. Inaug.-Diss., Heidelberg 1903.
Schmied, H., I. Über Carotin in der Wurzel von Dracaena und anderen Liliaceen. (Österr. bot. Ztschr. 1903, p. 313.)
Schüler, O., I. Über die Bestandteile des Safrans usw. (Inaug.-Diss., München 1899. Ref.: Bot. Zbl. 1901, Bd. LXXXVII, p. 152.)
Schütt, F., I. Über Peridineenfarbstoffe. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1890.)
Schwarz, J., I. Chemisch-botan. Studien über die in den Flechten vorkommenden Flechtensäuren. (Beitr. z. Biologie d. Pflanzen 1883, Bd. III, p. 254.)
Senft, E., I. Ein neues Verfahren zum mikrochemischen Nachweis der Flechtensäuren. (Pharm. Praxis 1907, Nr. 12.)
—, II. Über das Vorkommen von Physcion usw. (Wiesner-Festschrift, p. 176.)
—, III. Beitrag zur Anatomie und zum Chemismus der Flechte Chrysothrix nolitangere Mont. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1916, Bd. XXXIV, p. 592.)
—, IV. Beitr. z. Mikrochemie einiger Anthrachinone. (Ztschr. d. allg. öst. Apoth.-Ver. 1914, p. 165.)
Spieß, K. v., I. Über die Farbstoffe des Aleurons. (Österr. bot. Ztschr. 1904, Nr. 12.)
Stahl, E., I. Die Schutzmittel der Flechten gegen Tierfraß. (Festschr. f. Haeckel. Jena 1904, p. 357.)
Strecker, E., I. Das Vorkommen des Scutellarins bei den Labiaten und seine Beziehungen zum Lichte. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1909, Bd. CXVIII, p. 1379.)
Tammes, T., I. Über die Verbreitung des Carotins im Pflanzenreiche. (Flora 1900, p. 218.)
Tieghem, Ph. van, I. Sur les canaux sécréteurs des plantes. (Annal. d. scienc nat. 7. sér. t. 1, 1885, p. 79—80.)
Thörner, W., I. Über einen in einer Agaricusart vorkommenden chinonartigen Körper. (Ber. d. d. chem. Ges. 1878, p. 533, und 1879, p. 1630.)
Tschirch, A., und Polacco, I. Archiv d. Pharm. 1900, Bd. CCXXXVIII, p. 473.
— und Hiepe, II. Ebenda p. 432.
—, III. Untersuchungen über das Chlorophyll. 1884.
Tswett, M., I. Spektralanalytische Untersuchungen über die Chlorophylline usw. (Ber. d. deutsch. bot. Ges. 1907, p. 137.)

Tswett, M., II. Über den makro- und mikrochemischen Nachweis des Carotins. (Ebenda 1911, Bd. XXIX, p. 630.)
—, III. Das Chloroglobin. (Bot. Zbl. 1900, Bd. LXXXI, p. 83.)
—, IV. Kritische Bemerkungen zu Molischs Arbeit usw. (Bot. Ztg. 1905, Abt. II, p. 273.)
Tunmann, O., I. Zur Anatomie des Holzes und der Wurzel von Morinda citrifolia usw. (Pharm. Zentralhalle 1908, p. 1013.)
—, II. Kleine Beiträge zur Pflanzenmikrochemie. (Ebenda, 1912, Jg. 53, No. 42, p. 1178.)
—, III. Beiträge zur angewandten Pflanzenmikrochemie. (Gehe u. Comp., Handelsbericht 1911, p. 155.)
—, IV. Zur Mikrochemie des Gentisins u. der gelben Farbstoffe von Frasera carolinensis. (Apotheker-Ztg. Berlin, 1916, p. 181.)
—, V. Über den Nachweis des Crocetins. (Apotheker-Ztg. 1916, p. 237.)
Verschaffelt, E., I. Une réaction permettant de déceler l'indol dans les parfums des fleurs. (Recueil des Travaux Botaniques Neerlandais 1904, Bd. I, p. 120.)
Vogl, A. E. v., I. Unterirdische Pflanzenteile. (In Wiesners „Die Rohstoffe des Pflanzenreichs", 2. Aufl., Bd. II, 1903.)
Vogtherr, M., I. Über Alkanna und ihre Verwandten. (Pharm. Zentralhalle 1896, Jg. 37, p. 148.)
Volkart, I. Untersuchungen über den Parasitismus der Pedicularis-Arten. Inaug.-Diss. Zürich 1899, p. 40.
Wasicky, R., I. Zur Mikrochemie der Oxymethylanthrachinone und über ein Anthraglykoside spaltendes Enzym im Rhabarber. (Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., Bd. III, Jg. 1915, p. 37.)
Weehuizen, F., I. Pharmaz. Weekblad 1908, XLV, p. 1325. (Zit. nach G. Zemplén in Abderhaldens Biochem. Handlexikon, Bd. IV, 2. Hälfte, p. 853.)
—, II. Über indoloide Düfte. Rec. des Trav. Bot. Neerl. 1911, Vol. VIII, p. 97.
Weigert, L., I. Beiträge zur Chemie der roten Pflanzenfarbstoffe. (Jahresber. d. önol. u. pomol. Lehranstalt z. Klosterneuburg 1894/95.)
Wiesner, J., I. Die Rohstoffe des Pflanzenreichs. Leipzig 1873, p. 644.
—, II. Untersuchungen über die Farbstoffe einiger für chlorophyllfrei gehaltener Phanerogamen. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1872, 8.)
—, III. Einige Beobachtungen über Gerb- und Farbstoffe der Blumenblätter. (Bot. Ztg. 1862, 20.)
Wilschke, A., I. Über die Fluoreszenz der Chlorophyllkomponenten. (Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie, Jg. 1914, Bd. XXXI, p. 338.)
Willstätter, R., I. Chlorophyll. (In Abderhaldens Biochem. Handlexikon 1911, Bd. VI, p. 1.)
—, II. Untersuchungen über Chlorophyll. XVI. Über die ersten Umwandlungen des Chlorophylls. Von Willstätter und Utzinger. (Liebigs Annal. d. Chemie 1911, Bd. CCLXXXII, p. 135.)
—, III. Chlorophyll und seine wichtigsten Abbauprodukte. (Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden 1910, Bd. II, p. 688.)
— und Mieg, W., IV. Untersuchungen über Chlorophyll. IV. Über die gelben Begleiter des Chlorophylls. (Liebigs Annal. d. Chemie 1907, Bd. CCCLV, April.)
— und Stoll, A., V. Untersuchungen über Chlorophyll. Berlin 1913.
—, VI. Untersuchungen über Anthocyane. Liebigs Annalen der Chemie. 401 (1913), 404 (1915) und 412 (1917).
—, VII. Ber. d. deutsch. chem. Ges., Jg. 47 (1914), Heft 15, p. 2867.

Wisselingh, C. v., I. Über die Nachweisung u. das Vorkommen von Carotinoiden in der Pflanze. (Flora 1915, Bd. VII, N. F.)
Zellner, J., I. Chemie der höheren Pilze. Leipzig 1907, p. 138.
Zempten, G., I. In Abderhaldens Biochem. Handlexikon 1911. Bd. IV, 2. Hälfte, p. 844.
Zimmermann, A., I. Die botanische Mikrotechnik. Tübingen 1892, p. 104.
Zopf, W., I. Die Flechtenstoffe. Jena 1907.
—, II. Über Pilzfarbstoffe. (Bot. Ztg. 1889, Jg. 47, p. 69.)
—, III. Die Pilze. (In Schenks Handbuch d. Botan. Breslau 1890, Bd. IV, p. 424.)
—, IV. Über das mikrochemische Verhalten von Fettfarbstoffen usw. (Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie 1889, Bd. VI, p. 172.)
—, V. Über das Polycystin, ein kristallisierendes Carotin aus Polycystis flos aquae Wittr. (Ber. d. deutsch. bot. Ges. 1900, Bd. XVIII, p. 461.)

IX. Alkaloide.

Allgemeines.

Unter Alkaloiden in weiterem Sinne versteht man die organischen Pflanzenbasen. Sie sind alle durch ihren Stickstoffgehalt ausgezeichnet und lassen sich in der Mehrzahl der Fälle vom Pyridin und Chinolin ableiten, in seltenen Fällen auch als Glieder der aliphatischen Reihe ansprechen. Als stickstoffhaltige Basen kann man die Alkaloide alle vom Ammoniak ableiten und demgemäß in primäre, sekundäre, tertiäre und quaternäre Basen unterscheiden. Die meisten sind fest, nur wenige, wie Coniin, Nikotin flüssig, fast alle sind im Wasser schwer löslich oder unlöslich, in Alkohol leicht, in Chloroform, Äther, Benzol mehr oder weniger schwer löslich. Die Mehrzahl ist optisch aktiv, und zwar linksdrehend. Sie bilden mit Säuren leicht Salze, besonders gut kristallisierende mit Salz-, Schwefel- und Oxalsäure. Ihre Salze gehen mit verschiedenen Metallsalzen, z. B. mit Quecksilber-, Platin- und Goldchlorid, leicht Doppelverbindungen ein.

Die Alkaloide sind beinahe alle farblos. Gelb gefärbt sind Berberin, Sinapin und Harmalin und rot ist das Sanguinarin. Sie besitzen häufig einen bitteren und brennenden Geschmack, was vielleicht mit Rücksicht auf ihre ökologische Rolle von Bedeutung ist. Bezüglich des neuesten Standes der Alkaloidforschung vergleiche man besonders die Werke von Pictet-Wolfenstein (I) und Winterstein-Trier (I).

Vorkommen.

Die Alkaloide sind besonders unter den Dikotylen sehr verbreitet, weniger unter den Monokotylen und Gymnospermen, noch seltener bei den Pteridophyten und Pilzen. Bei Algen und Moosen wurden sie überhaupt noch nicht konstatiert. Unter den Dikotylen zeichnen sich hauptsächlich folgende Familien durch ihren Reichtum an Alkaloiden aus: Apocyneen, Asclepiadeen, Loganiaceen, Rubiaceen, Solanaceen, Papaveraceen, Fumariaceen, Leguminosen, Ranunculaceen, Berbereideen, Menispermaceen usw. Manche Familien, die sich durch einen großen Gehalt an ätherischen Ölen auszeichnen, besitzen anscheinend keine Pflanzenbasen, z. B. die Labiaten und Rosaceen. Über das Auftreten von Alkaloiden und systematische Verwandtschaft vergleiche man p. 12.

Die Alkaloide kommen in der Pflanze ihres ausgesprochen basischen Charakters wegen nicht frei, sondern gebunden an Säuren vor, gewöhnlich an Apfel-, Zitronen-, Bernstein-, Gerbsäure oder an spezielle Säuren, doch ist häufig nicht bestimmt zu sagen, an welche Säure die Base in der lebenden Zelle gekettet ist.

Bei vielen Pflanzen sind es besonders die Samen und Früchte (Piper, Strychnos, Colchicum, Coffea usw.), die Alkaloide führen. Bei anderen Dingen liegen die Basen vornehmlich in den Blättern (Solaneen, Erythroxylon Coca, Thea, Ilex usw.) oder in dem Wurzelstock (Hydrastis, Aconitum, Veratrum album) oder in den Rinden (Cinchona, Punica usw.) oder in den Milchröhren (Papaveraceen).

Bezüglich der Samen fand Clautriau (II) folgendes: Bei Atropa Belladonna, Datura Stramonium liegt das Alkaloid in einer knapp unter der Samenschale liegenden Zellschicht, bei Conium maculatum in größerer Menge innerhalb der das Endosperm umgebenden Zellen, in geringerer Menge innerhalb der Fruchtschale. Bei Aconitum Napellus und Delphinium Staphisagria befindet sich das Alkaloid innerhalb des Endosperms, fehlt aber in der Samenschale und im Embryo. Bei Strychnos albus u. a. tritt es in allen Zellen des Endosperms und des Embryos auf, fehlt aber in dem den Samen bedeckenden Haarfilz. Bei Lupinus albus soll es vorwiegend in den Keimblättern, in geringer Menge auch in der Plumula vorhanden sein. Bei den Papaveraceen treten die Alkaloide im Milchsafte auf.

Lokalisation. Im allgemeinen kann man mit Errera (II, 186) sagen: Die Alkaloide treten besonders in sehr aktiven Geweben auf, so in der nächsten Nachbarschaft der Vegetationspunkte, in den Samenknospen, ferner in der Oberhaut und den darunter liegenden Schichten, in den Haaren, den peripheren Teilen der Früchte und Samen, im Umkreis der Gefäßbündel, im Phellogen, in den jüngsten Korkzellen und in den Milchröhren.

Die biologische Bedeutung der Alkaloide ist nur zum Teil erkannt. Im allgemeinen neigt man zur Anschauung, daß die Alkaloide und deren Salze wegen ihrer Giftigkeit und ihres brennenden und bitteren Geschmackes als Schutzmittel gegen Tierfraß eine Rolle spielen. Es liegt auch die Frage nahe, ob die Basen nicht auch beim Auf- und Abbau der Proteïnkörper beteiligt sind, doch herrschen darüber keine klaren Ansichten. Clautriau (I, II) findet, daß das Verschwinden der Alkaloide in den Pflanzen niemals von einer gleichzeitigen Vermehrung der Eiweißsubstanzen begleitet ist, daß hingegen auf eine Verminderung der Proteïnkörper eine Vermehrung der Alkaloide folgt. Das im Samen von Coffea gespeicherte Alkaloid verschwindet im Gegensatz zu Heckel nach Clautriau im Verlaufe der Keimung nicht und nützt nicht der jungen Pflanze. Hingegen schließt Weevers (I) aus seinen Versuchen, daß das Koffeïn und Theobromin bei der Eiweißdissimilation infolge sekundärer Prozesse gebildet, kürzere oder längere Zeit gespeichert und dann wieder zur Eiweißsynthese benützt wird. Daraus geht natürlich nicht hervor, daß sich andere Alkaloide auch so verhalten und erst wenn bezüglich mehrerer Alkaloide ausgedehnte Stoffwechselversuche vorliegen werden, wird es möglich sein, die Rolle der Pflanzenbasen im Stoffwechsel der Pflanzen richtig zu beurteilen.

Der mikrochemische Nachweis.

Aus wässeriger oder saurer Lösung werden die Alkaloide durch eine Reihe von Substanzen, die man als Alkaloidgruppenreagen-

tien bezeichnet, gefällt. Dazu gehören Jodjodkaliumlösung, Phosphormolybdänsäure, Kaliumquecksilberjodid, Pikrinsäure, Tannin, Sublimat, Platinchlorid, Natriummolybdat und Schwefelsäure (Fröhdes Reagens) u. a. Es braucht wohl nicht erst betont zu werden, daß aus einer Fällung im Gewebe nicht ohne weiteres auf ein Alkaloid geschlossen werden darf, und ich kann diesbezüglich nur wiederholen, was ich schon vor Jahren gesagt habe: „Es ist zu bedenken, daß von den genannten Körpern nicht nur Alkaloide, sondern eine ganze Reihe anderer Körper gleichfalls gefällt werden. So gibt beispielsweise die Phosphorwolframsäure auch Fällungen mit Gallusgerbsäure, Farbstoffen, Betaïn, leim- und peptonartigen Körpern, Methylamin, Trimethylamin, Ammoniaksalzen, Xanthinkörpern, gewissen Stoffen des Harns (Kynurensäure, Kreatinin); offenbar ist damit die Reihe von fällbaren Körpern noch nicht abgeschlossen. Ähnliches gilt von den anderen allgemeinen Alkaloidreagentien. Errera, der mit Hilfe von Spezialreaktionen den Sitz einiger Alkaloide in den Pflanzen ausfindig machte und hierdurch einen wichtigen Beitrag zur Mikrochemie schuf, versuchte dort, wo Spezialreaktionen fehlten (z. B. beim Nikotin), das Alkaloid mit Hilfe der allgemeinen Reaktionen nachzuweisen. Das Ungenügende dieser Methode erkennend, machte er später selbst (I) darauf aufmerksam, daß auch die Mehrzahl der Eiweißkörper durch die allgemeinen Alkaloidreagentien gefällt werden. Um nun zu entscheiden, ob eine Fällung von einem Alkaloid oder einen Proteïnkörper herrühre, nimmt er darauf Bedacht, daß die Alkaloide in mit Weinsäure angesäuertem Alkohol löslich sind, die Eiweißkörper aber nicht. Gibt ein dickerer Pflanzenschnitt nach der Auslaugung in Alkohol, z. B. mit Phosphormolybdänsäure, eine Fällung, so rühre sie von Eiweiß her, entsteht der Niederschlag aber nur vor der Auslaugung, so rühre er von einem Alkaloid her. Dieser Schluß scheint mir aber nur unter der Annahme zulässig, daß durch die allgemeinen Alkaloidreagentien nur Alkaloide und Proteïnkörper gefällt werden, eine Voraussetzung, die aber nach dem oben Gesagten und nach den Angaben Erreras selbst nicht zutrifft“ (Molisch I, 15).

Da nun für recht viele Alkaloide vorläufig Spezialreaktionen fehlen, so wird man unter den nötigen Vorsichten mit den Gruppenreagentien sich behelfen müssen, und wenn die verschiedenen Reaktionen gleichsinnige Resultate geben und man überdies die von Errera empfohlene Vorsicht (Entzug des Alkaloids durch Alkohol) anwendet, wird man auch den Gruppenreaktionen bis zu einem gewissen Grade vertrauenerweckende Ergebnisse abgewinnen können, jedoch immer unter der Voraussetzung, daß die mikrochemische Untersuchung durch die makrochemische gestützt wird. Mit Hilfe der Gruppenreagentien haben Errera und seine Schüler Clautriau, Jacquemin (I), Maistriau, Molle (I) und Wildeman (I) usw. bei zahlreichen Pflanzen den Sitz und die Verteilung der Alkaloide untersucht und dabei wertvolle Ergebnisse erzielt.

Es empfiehlt sich, sowohl unveränderte Schnitte als auch solche, denen das Alkaloid entzogen wurde, nebeneinander vergleichend zu prüfen. Um die letzteren zu erhalten, lege man sie für mehrere Stunden bis 2 Tage in mit Weinsäure angesäuerten Alkohol (1:20)

und dann zur Entfernung der Säure und des Alkohols für einen Tag ins Wasser (Barth I, 229).

Als das beste Reagens, als „réactif par excellence" bezeichneten Errera, Maistriau und Clautriau (I, 152) das

Jodjodkalium (J 1, JK 1, H_2O 100). Die Lösung gibt mit Alkaloiden einen rotbraunen Niederschlag, der sich in unterschwefligsaurem Natron löst.

Über die Bereitung der anderen Reagentien macht Barth (I, 261) folgende Angaben:

Kaliumwismutjodid. Wismutjodid wird in warmer konzentrierter Lösung von Jodkalium in Wasser gelöst und die Flüssigkeit dann mit noch einmal soviel Jodkaliumlösung versetzt, als vorher dazu notwendig war.

Kaliumquecksilberjodid ($HgCl_2$ 13, KJ 49, H_2O 1000) gibt mit Alkaloiden einen weißen oder gelblichen flockigen Niederschlag.

Tannin gibt in 10proz. Lösung mit A. dunkelbraune Fällungen.

Pikrinsäure (1:10) fällt A. in saurer Lösung teils amorph, teils kristallinisch.

Platinchlorid (1:10) gibt in schwach angesäuerter Lösung meist schwer lösliche kristallinische Doppelsalze.

Quecksilberchlorid (1:20) in wässeriger Lösung gibt mit vielem A. einen weißen, oft kristallinischen Niederschlag. Barth (I, 263) verwendete mit Vorteil auch Goldchlorid und konzentriertes Bromwasser.

Abgesehen von den Gruppenalkaloidreaktionen haben wir in den Spezialreaktionen einzelner Alkaloide und in der neuerdings stark gepflegten Mikrosublimation wertvolle Mittel, den mikrochemischen Nachweis sicherer zu gestalten, obwohl es auch hier noch manche Schwierigkeit zu überwinden gibt.

Die Mikrosublimation der Alkaloide direkt aus dem Gewebe ist für Koffeïn von Nestler (I) ausgeführt worden und Eder (I) hat gezeigt, daß zahlreiche Alkaloide sich gut sublimieren lassen, allerdings aus reinen Präparaten, und es wird notwendig sein, seine Versuche erst auf die Gewebe der Pflanze auszudehnen. Wichtig für den mikrochemischen Nachweis sind die Vorschläge von Behrens (I, 46) zur Abscheidung der Alkaloide in Form kristallinischer Niederschläge, die von Pozzi-Essot (I) und ebenso die von Gruttering (I), die eine Reihe von sehr charakteristischen Fällungsreaktionen für Alkaloide bekannt gemacht haben. Leider arbeiteten sowohl Behrens wie Grutterink nur mit Lösungstropfen, so daß auch ihre Ergebnisse erst dem mikrochemischen Nachweis in der Pflanze angepaßt werden müssen. Dasselbe gilt von den durch Tunmann (III, IV) beschriebenen Reaktionen mit Sparteïn, Strychnin, Morphin, Papaverin, Kryptopin, Codeïn, Atropin und Hyoscyamin.

Nach diesen mehr allgemeinen Bemerkungen soll im folgenden gezeigt werden, welche Alkaloide bisher mikrochemisch in den Geweben nachgewiesen worden sind.

Spezielles.

1. Coniin, $C_8H_{17}N$.

Vorkommen.

Im Kraute und besonders in den Samen von Conium maculatum.

Eigenschaften. Im reinen Zustande eine farblose, fast geruchlose Flüssigkeit. Schwer löslich in kaltem, noch schwerer in heißem Wasser, leicht löslich in Alkohol und verdünnten Säuren, reagiert alkalisch, raucht bei Annäherung starker Salzsäure, oxydiert sich an der Luft unter Braunfärbung, sehr giftig. Konzentrierte Schwefelsäure färbt blutrot, dann grün.

Der mikrochemische Nachweis wurde fast nur mit Gruppenreaktionen geführt (Anema I, 8; Clautriau II, 269; Tschirsch und Oesterle I, 160; Barth I, 292). Die Ergebnisse der Forscher stimmen nicht ganz überein. Daß das Alkaloid in der Fruchtwand vorkommt, darf als sicher gelten. Hingegen behauptet Clautriau (II, 271), daß es sich auch in großer Menge in den das Albumen umgebenden Zellen findet, während Barth (I, 296) sagt, daß das Endosperm und der Embryo alkaloidfrei ist.

2. Piperin, $C_{17}H_{19}NO_3$.

Vorkommen.

In den Früchten von Piper nigrum, P. longum, Cubeba Clusii Miq., Chavica officinalis Miq., C. Roxburghii Miq. und vielleicht noch in anderen verwandten Arten.

Eigenschaften. Piperin kristallisiert aus heißem Weingeist in farblosen Prismen. Bei 100° schmelzen sie zu einer gelblichen, öligen Masse, die beim Erkalten amorph erstarrt. Es löst sich in Alkohol, Äther, Benzol und Petroläther, in Wasser ist es fast unlöslich. Der mikrochemische Nachweis kann in schwarzem Pfeffer in folgender Weise geführt werden[1]) (Molisch I, 27).

1. Das Piperin kann direkt unterm Mikroskop zur Anschauung gebracht werden, indem man zarte Schnitte auf den Objektträger legt, mit dem Deckglas zerdrückt und etwas zerreibt. Dabei tritt das ätherische Öl aus den gelben Zellen heraus, verdampft, selbst während das Deckglas auf dem Schnitt liegt, teilweise und läßt hierbei das Alkaloid in zahlreichen winzigen, kurzen Kristallnädelchen herausfallen. Diese zeigen die Eigenschaften des Piperins.

2. Noch größere Kristalle schießen in den Präparaten, und zwar innerhalb der gelben Zellen oder in deren Umgebung an, wofern dünne Schnitte in Wasser oder Glyzerin unter Deckglas eingelegt und dann (bei Verwendung von Wasser) in feuchtem Raume mehrere Stunden oder Tage aufbewahrt werden. Schnitte, die unter Deckglas in Wasser gedrückt und zerrieben werden, lassen schon innerhalb der ersten Viertelstunde die Piperinkristalle erkennen.

---

1) Zur Orientierung sei bemerkt, daß das Nährgewebe (Perisperm) der Pfefferfrucht der Hauptmasse nach aus polygonalen Stärkeparenchymzellen besteht, zwischen denen ähnlich geformte gelbe Zellen, die Harzpiperinzellen, liegen, so genannt, weil sie Harz und Piperin enthalten.

3. Geht schon aus den vorhergehenden Beobachtungen ziemlich sicher hervor, daß das Piperin im Perisperm ausschließlich in den gelben Zellen seinen Sitz hat, so folgt dies noch bestimmter aus folgender Tatsache. Das Piperin löst sich in konzentrierter Schwefelsäure mit rubinroter oder tiefblutroter Farbe. Werden Piperinkristalle mit konzentrierter Schwefelsäure auf dem Objektträger behandelt, so entsteht sofort um sie ein safran- oder tiefblutroter Hof, kurze Zeit darauf geht die Farbe allmählich in Purpur, Grünlichgelb und schließlich in Braun über. Auf Zusatz von Wasser verschwindet die Farbe sofort. Diese Reaktion läßt sich sehr gut mikroskopisch verwerten.

4. Ein Schnitt durch das Nährgewebe des Pfeffers mit konzentrierter Schwefelsäure betupft, färbt sich genau so wie Piperin, nämlich tief blutrot, und zwar färben sich nur die gelben Zellen. Diese und nur diese führen also neben dem Weichharz auch das Piperin (Molisch I, 31).

5. Wird ein Schnitt unter Deckglas mit Essigester versehen, so bildet sich am Deckglasrande ein gelbe Zone, in der ziemlich große, flache, monokline, sternförmig gelagerte Prismen des Piperins auftreten. Im Polarisatiosmikroskop leuchten sie farbig auf (Tunmann).

3. Die Alkaloide der Solanaceen.

α) Nikotin, $C_{10}H_{14}N_2$.

Vorkommen.

In den Organen verschiedener Nicotiana-Arten.

Eigenschaften. Das Nikotin stellt in reinem Zustande, frisch bereitet, eine farblose ölige Flüssigkeit dar, die nicht nach Tabak riecht und einen brennenden Geschmack besitzt. Sehr giftig und hygroskopisch. An der Luft infolge von Sauerstoffaufnahme verharzend. Mischt sich in allen Verhältnissen mit Wasser, Alkohol und Äther.

Der mikrochemische Nachweis stützt sich bloß auf Gruppenreaktionen (Errera, Maistriau, Clautriau I, 161). Das Alkaloid findet sich bei Nicotiana macrophylla in der Wurzel, im Stamm und Blatt. In mehr oder minder großer Menge in der Oberhaut, den Haaren, im Parenchym, in bedeutenden Quantitäten in jungen Organen und besonders im Vegetationspunkt. Molle (I, 327) untersuchte N. Tabacum und fand es gleichfalls in allen Organen. Nikotin fand sich auch in der Blütenregion, reichlich in den Placenten und den Samenknospen, aus denen es bei der Samenbildung verschwindet.

Nach de Toni (I) fehlt das Nikotin im Samen und der jungen Keimpflanze. Es findet sich lokalisiert in der Rinde der älteren Wurzel, besonders in den subepidermalen Zellen, ferner in den Epidermiszellen des Stammes, in den Basalzellen der Drüsenhaare, im Blattstiel, in der Blattspreite, im Kelch, der Blumenkrone, in der Oberhaut des Griffels und in den Narbenhaaren.

β) Atropin, $C_{17}H_{23}NO_3$.

Vorkommen.

In Atropa Belladonna, Datura Stramonium und Scopolia japonica.

Eigenschaften. Bildet den Kern der meisten Solanaceen-alkaloide. Leicht löslich in Alkohol und Chloroform, schwer löslich in kaltem Wasser. Kristallisiert aus Alkohol und Chloroform in farblosen Prismen. Gelöst schmeckt es scharf und bitter. Es ist sehr giftig und verdankt seine medizinische Anwendung der Eigenschaft die Pupille zu erweitern.

Mikrochemischer Nachweis.

Atropa Belladonna. Nach WÊVRE (I) entsteht mit Jodjodkalium in den Zellen ein brauner Niederschlag, nach einiger Zeit bilden sich sogar sternförmige Kristallisationen von metallischem Aussehen. Ausführliche Untersuchungen verdanken wir MOLLE (I, 306), aber auch sie basieren nur auf der Verwendung einiger Alkaloidgruppenreaktionen, hauptsächlich des Jodjodkalium. Das Alkaloid wurde auf diese Weise in Wurzel, Stamm, Blatt, Blüte, Samen und der Frucht nachgewiesen. Speziell der Same wurde von ANEMA (II) und CLAUTRIAU (II) auf Atropin untersucht. Der letztere fand das Alkaloid ausschließlich in einer zwischen dem Integument und dem Albumen liegenden Schicht, hingegen niemals im Albumen und Embryo. Dies wurde von SIIM JENSEN (I) und FELDHAUS (I) bestätigt. Die von BEHRENS (I, 57) angegebenen mikrochemischen Reaktionen auf Atropin werden vielleicht auch in der Pflanze verwendbar sein, sie müssen aber erst für diesen Zweck ausprobiert werden. — Datura Stramonium. In dieser Pflanze wurden von LADENBURG zwei Alkaloide nachgewiesen: Atropin und hauptsächlich Hyoscyamin. Arbeitet man daher mit den allgemeinen Reagentien (MOLLE I, 352), so kann man mit einiger Wahrscheinlichkeit auf Alkaloide überhaupt schließen, aber nicht auf ein bestimmtes. Dasselbe gilt für Scopolia, wo auch mehrere Basen vorkommen.

γ) Hyoscyamin, $C_{17}H_{23}NO_3$.

Vorkommen.

In Hyoscyamus niger, H. muticus, im Samen von Datura Stramonium und in der Mandragora-Wurzel.

Eigenschaften. Ähnelt sehr dem Atropin und läßt sich in dieses leicht überführen, Hyoscyamin kristallisiert aus Alkohol in Nadeln, schmeckt scharf und erweitert gleichfalls die Pupille.

Der mikrochemische Nachweis (MOLLE I, 315) wurde mit Gruppenreaktionen geführt. Das Alkaloid findet sich im Stamm, Blatt, in den Haaren und im Samen.

δ) Solanin, $C_{52}H_{93}NO_{18} + 4^1/_2H_2O$.

Die Formel dieser glykosidischen Base ist noch nicht sicher.

Vorkommen.

Das Solanin wurde nachgewiesen in den Früchten von Solanum nigrum, S. Dulcamara, S. verbascifolium, S. tuberosum, in den jungen Trieben der Kartoffelknollen, in den Stengeln und Blättern von Solanum Lycopersicum und anderen Solanum-Arten und schließlich auch in anderen Solanaceen-Gattungen.

Eigenschaften. Solanin kristallisiert aus Weingeist in kleinen, perlmutterartig glänzenden, weißen, rechtwinklig-vierseitigen Prismen.

Es ist löslich in Wasser, verdünntem Alkohol und heißem Amylalkohol, fast unlöslich in Benzin. In einem warmen Gemisch von gleichen Volumina konzentrierter Schwefelsäure und Alkohol löst es sich mit roter Farbe. Mit dieser warmen Mischung wird ein Solaninkristall selbst hellgrün, die umgebende Flüssigkeit aber hellrosa. Bei der hydrolytischen Spaltung liefert Solanin Solanidin, Galaktose, Rhamnose und wahrscheinlich vor diesen einen komplexen Zucker (WITTMANN).

Nachweis.

Zum mikrochemischen Nachweis wurden zahlreiche Reaktionen empfohlen. WOTHTSCHALL (I) hat die verschiedenen Vorschläge [DRAGENDORFF, SCHAARSCHMIDT (I) usw.] überprüft und bezeichnet schließlich folgende drei Proben als empfehlenswert:

1. Vanadinsaures Ammonium in Schwefelsäuretrihydrat ($H_6SO_6 = H_2SO_4 + 2H_2O$). Man löst 1 Teil vanadinsaures Ammonium (NH_4VO_3) in 1000 Teilen eines Gemisches von 98 Teilen konzentrierter Schwefelsäure und 36 Teilen Wasser. Das Reagens ist frisch bereitet zu verwenden. Solaninhaltige Schnitte werden der Reihe nach gelb, orange, purpurrot, bräunlichrot, karmin-, himbeerrot, violett, blauviolett, blaßgrau und schließlich entfärbt. Der Farbenübergang dauert gewöhnlich einige Stunden, er kann aber auch rascher oder langsamer (24 Stunden) verlaufen. Grenze der Empfindlichkeit 0,01 mg.

Bekanntlich können fette Öle mit konzentrierter Schwefelsäure ähnliche Färbungen geben. Um sich vor Täuschungen zu bewahren, entfette man die Schnitte vorher mit Äther. Dasselbe gilt auch von der Reaktion 3. Man beachte auch Verwechslungen mit Anthocyan und die RASPAILsche Reaktion mit Eiweiß!

2. Selensaures Natrium, gelöst in Schwefelsäure, verwendete zuerst BRANDT (I). Das Reagens besteht aus 0,3 g Na_2SeO_4 und einer Mischung von 8 ccm Wasser und 6 ccm reiner konzentrierter Schwefelsäure. Diese Lösung ist lange haltbar. Man setzt zu dem Schnitte einen Tropfen des Reagens und erwärmt über einer kleinen Flamme, den Objektträger hin- und herziehend, vorsichtig, bis eben der Beginn der Färbung sich einstellt. In diesem Augenblicke wird die Erwärmung sofort unterbrochen. Es entwickelt sich dann der Reihe nach eine himbeer-, johannisbeerrote und eine bräunlichgelbe Färbung, die schließlich vollständig verschwindet. Die Grenze der Empfindlichkeit liegt bei 0,025 mg. Die Reaktion ist zwar weniger empfindlich wie die MANDELINSche, aber sie hat den Vorteil, daß sie die Verwendung einer verdünnten Schwefelsäure gestattet, wodurch das Gewebe weniger gestört wird.

3. Schwefelsäure. Solaninhaltige Präparate färben sich mit reiner konzentrierter Schwefelsäure zuerst hellgelb, dann rötlich, schwach violett, grau und werden schließlich entfärbt. Leider wird bei dieser Reaktion das Gewebe vollständig zerstört. Dies und das mögliche Auftreten der RASPAILschen Reaktion infolge von Eiweiß bilden die Schattenseiten dieser Probe. Abgesehen davon leisten die drei Reaktionen gute Dienste, insbesondere die Reaktion 1.

Ein günstiges Objekt für den mikrochemischen Nachweis des Solanins sind kurze etiolierte Kartoffeltriebe, Beeren von Solanum nigrum und S. Dulcamara. Nach Wothtschall (I, 190) findet sich bei den Kartoffeltrieben viel Solanin im Vegetationspunkte des Stengels und an Stellen, wo sich die Knospen und Wurzeln bilden. Im Stengel enthalten die epi- und subepidermalen Zellen die Hauptmenge des Solanins, gegen die Mitte des Stengels nimmt der Solaningehalt ab. Auch bei den Stengeln von Solanum Dulcamara war in der Peripherie der Rinde das meiste Solanin vorhanden. Das Solanin kommt in der lebenden Zelle stets gelöst vor. Ob es, wie Wothtschall meint, auch in der Zellhaut vorkommt, ist wohl schwer zu sagen, da ja die geschilderten Solaninreaktionen zu den diffusen gehören und weit davon entfernt sind, das Alkaloid an Ort und Stelle anzuzeigen.

Albo (I) suchte auf mikrochemischem Wege durch Untersuchung von Kartoffeltrieben, Keimlingen von Capsicum annuum und Solanumarten die Rolle zu ermitteln, die dem Solanin in der Pflanze zukommt. Das Solanin ließ sich in den Kotylen, dem Hypokotyl nahe der Spitze und in den Stengelchen nachweisen. Er schreibt dem Alkaloid eine ernährungsphysiologische Rolle zu.

Eingehende Untersuchungen über die Verteilung des Solanin in der Kartoffelpflanze machte Molle (I, 318), jedoch hauptsächlich nur auf Grund der allgemeinen Alkaloidreaktionen.

Molle (I) hat bei der Untersuchung der Solaneen Nicandra physaloides, Petunia violacea, Physalis Alkekengi, Salpiglossis sinuata und Brunfelsia americana mit den allgemeinen Alkaloidreagentien Niederschläge erhalten und glaubt daraus auf die Anwesenheit von Alkaloiden schließen zu dürfen. Da aber bisher aus diesen Pflanzen Alkaloide noch nicht dargestellt worden sind, so gehe ich nicht näher darauf ein.

Allgemeines über die Verteilung der Alkaloide bei den Solaneen. Die Alkaloide finden sich in großer Menge in den oberirdischen Vegetationspunkten und ihrer nächsten Umgebung und nehmen von hier aus ab.

Im Stamme tritt das Alkaloid in der Epidermis auf und dann in zwei Schichten, die den Gefäßbündelring außen und innen begrenzen. Häufig verschwindet — Solanum Dulcamara bildet eine Ausnahme — das Alkaloid in einiger Entfernung vom Vegetationsscheitel und verbleibt im Hautgewebe. In den Blättern lokalisiert es sich in der Epidermis und in der Nähe der Siebröhren.

Die Wurzel führt die Alkaloide reichlich in der Wurzelhaube, in der wurzelhaaretragenden Schicht und in den äußeren Reihen des Periblems. In der alten Wurzel finden sich Alkaloide im Rindenparenchym und in den jungen Elementen des Korkes.

Die Blütenorgane verhalten sich bezüglich der Alkaloidverteilung wie die Blätter. Die Karpelle und Samenknospen enthalten oft viel davon, und bei der Reife verschwindet ein Teil aus der Fruchthaut und dem Samen. Die reifen Samen führen zuweilen Alkaloide in ihren Hüllen, hingegen bleiben Albumen und Embryo stets frei davon (Molle I, 332).

4. Cocain (Methyl-Benzoylecgonin), $C_{17}H_{21}NO_4$.

In Erythroxylon coca und verwandten Arten dieser Gattung finden sich neben dem Hauptalkaloid Cocain noch andere Basen: Tropamethyl-, Cinnamylcocain, Benzoylecgonin, Hygrin, Cuskhygrin, α- und β-Truxillin.

Eigenschaften. Bildet monokline 4—6seitige Prismen, die einen Schmelzpunkt von 98° haben, in Wasser mäßig, in Alkohol leicht und auch in einem Gemisch von Benzol und Chloroform, Essigäther, Petroläther und Anilin löslich sind. Der Geschmack ist bitter, danach stellt sich aber Geschmack- und Gefühllosigkeit ein. Das Cocain ist das richtigste Lokalanästhetikum, denn es lähmt in hervorragender Weise die sensiblen Nervenendigungen.

Der Nachweis im Gewebe ist bis zu einem gewissen Grade gelungen.

a) Abspaltung von Benzoesäure. Bereits Tschirch (I) hat bei der Mikrosublimation feine Nädelchen erhalten und diese vermutungsweise als Benzoesäure hingestellt. Jüngst haben sich Wasicky (II) und Brandstetter mit der Sache beschäftigt und gezeigt, daß die erwähnten Kristallbeschläge tatsächlich aus Benzoesäure bestehen. Das Auftreten der Benzoesäure beruht darauf, daß das Cocain als Ecgonin aufgefaßt werden kann, an das ein Methylester und eine Benzoylgruppe angelagert ist. Schon durch Kochen mit Wasser wird Cocain in Methylalkohol und Benzoylecgonin gespalten und bei der Hydrolyse mit Säuren wird Benzoylecgonin weiter zerlegt in Ecgonin und Benzoesäure. Diese Tatsache wurde bereits von Wasicky (II) dazu verwendet, um reines Cocain durch Mikrosublimation nachzuweisen und Brandstetter (I) benützte das Auftreten der Benzoesäure in den Sublimationsbeschlägen zum Nachweis des Cocains im Gewebe.

Blattgewebestücke werden auf dem Objektträger im Glasring mit konzentrierter Schwefelsäure behandelt und mäßig erwärmt. Die entstehenden Beschläge werden mit Chloroform oder Alkohol gelöst, worauf nach dem Verdampfen des Lösungsmittels die charakteristischen Benzoesäurekristalle auftreten. Der Nachweis dieser Säure gelingt durch Hinzufügen von Silbernitratlösung und eine Spur Ammoniak. Es entstehen dann geißelförmige Kristalle von Silberbenzoat.

b) Die von Mezger (I) angegebene Reaktion, daß Cocain mit Chromsäure in Verbindung mit konzentrierter Salzsäure nadelförmige Kristalle liefert, wurde von Brandstetter (I) auch für Gewebeschnitte mit Erfolg verwendet. Grobe Schnitte der Blätter werden zuerst mit einer Spur Salzsäurealkohol betupft; nach Abdunsten des Alkohols wird eine 5%ige Chromsäurelösung und eine Spur Salzsäure beigefügt und mit dem Deckglas bedeckt. Nach 1 Stunde kristallisieren dann außerhalb des Gewebes feine Nadeln heraus, die nach einiger Zeit deformiert werden und sich im überschüssigen Reagens wieder lösen.

Mit Hilfe dieser beiden Reaktionen (a und b) konnte gezeigt werden, daß die Hauptmasse des Alkaloids sich im Grundgewebe des Blattes befindet. Im Blattstiel findet es sich auch vor, desgleichen in der Rinde des Stammes, aber nicht im Holz, Kork und der Wurzel. Untersucht wurden von Brandstetter Glashauspflanzen in Wien; ob

aber die Verhältnisse auch für die unter natürlichen Bedingungen lebenden Bäume gelten, läßt sich nicht ohne weiteres sagen.

5. Die Alkaloide der Leguminosen.

Bei den Leguminosen wurden bereits eine Reihe von Alkaloiden makrochemisch festgestellt: das Pithekolobin, Cytisin, Anagyrin, Lupinin, Lupanin, Sparteïn und Physostigmin. Mikrochemisch wurden sie hauptsächlich von Jacquemin (I) geprüft und dabei unter anderen folgende Pflanzen untersucht: Pithecolobium Saman Benth., Sophora tomentosa, Anagyris foetida, Thermopsis fabacca, Baptisia australis, Lupinus-Arten, Spartium junceum, Cytisus-Arten und Physostigma venenosum. Es wurde die Lokalisation der Alkaloide durch die allgemeinen Reaktionen von Jacquemin (I) eruiert und überdies die Anwesenheit von Alkaloiden bei Genista canariensis, Cytisus Attleanus, Erythrina viarum und E. insignis wahrscheinlich gemacht. Als Beispiel sei hier angeführt das

Cytisin, $C_{11}H_{14}N_2O$.

Vorkommen.

Cytisus-, Ulex-, Genista-, Sophora-, Baptisia- und Euchresta-Arten.

Eigenschaften. Cytisin kristallisiert aus Alkohol in Prismen und sublimiert im Vakuum. Löst sich in Wasser und Chloroform sehr leicht, hingegen sehr wenig in Äther und Benzol. Es reagiert stark alkalisch, schmeckt bitter, ätzend und ist giftig.

Nachweis.

Mikrochemisch wurde es zuerst von Rosoll (II, 22), Guèrin (I) und eingehend von Jacquemin (I, 282) hauptsächlich in Cytisus Laburnum verfolgt und mit Hilfe der Gruppenreaktionen in allen Organen (Wurzel, Stamm, Blatt, Blüte, Frucht, Samenknospe und Samen) nachgewiesen.

Bezüglich der Lokalisation der Alkaloide bei den Leguminosen hat sich im allgemeinen eine ziemliche Übereinstimmung bei den einzelnen Gattungen und Arten ergeben. Die Verteilung der Alkaloide in der Pflanze ähnelt auch sehr der bei den Solaneen.

Die Alkaloide treten in allen Organen auf. Reich daran erwiesen sich die Epidermis, das Parenchym und das Mark. Das meiste Alkaloid enthielten gewöhnlich die Kotyledonen, gar keines die Samenhüllen. Viel Alkaloid bergen die Vegetationspunkte, die Knospen, allgemein gesprochen, diejenigen Organe, die den Sitz einer großen Lebensenergie darstellen (Jacquemin I, 297).

6. Die Alkaloide der Papaveraceen.

Eine wahre Fundgrube für Alkaloide sind die Milchsäfte der Papaveraceen. Im Opium, dem eingetrockneten Milchsafte unreifer Kapseln von Papaver somniferum hat man bereits 21 genauer studierte Pflanzenbasen nachgewiesen. Aber gerade dieser Umstand, das häufige Nebeneinandervorkommen zahlreicher Alkaloide in ein und derselben Pflanze oder Zelle erschwert den mikrochemischen Nachweis eines bestimmten

Alkaloids, weil ja durch die allgemeinen Alkaloid-Reagentien alle Basen gefällt werden und gewisse Spezialfarbenreaktionen wegen der entsprechenden Mischfarben versagen. Man wird sich daher in den meisten Fällen vorläufig damit begnügen müssen, nicht spezielle Alkaloide, sondern Alkaloide überhaupt in der Zelle nachweisen zu können. Es seien zunächst die von mir mit verschiedenen Milchsäften seinerzeit ausgeführten Untersuchungen angeführt (Molisch II, 71).

Chelidonium majus L. In dieser Pflanze hat man mehrere Alkaloide festgestellt: Chelerythrin, Chelidonin, Sanguinarin, Protopin und Homochelidonin. Es war bis vor kurzem unbekannt, wo diese Alkaloide ihren Sitz haben. Bedenkt man, daß die Opiumalkaloide aus dem Milchsaft der Mohnpflanze gewonnen werden, so ist die Annahme naheliegend, daß auch die Alkaloide des Schöllkrautes oder wenigstens ein oder das andere im Milchsafte lokalisiert erscheinen. Chelerythrin, Chelidonin und Sanguinarin geben mit Salzsäure sehr leicht kristallisierbare Salze. Daher versuchte ich, mit Salzsäure den Sitz dieser Basen direkt in dem ausfließenden Safte und innerhalb der Milchröhren nachzuweisen. Wenn man einen Tropfen des frischen Milchsaftes mit einem Tropfen konzentrierter Salzsäure zusammenbringt, so schießt alsbald eine Unzahl von Kristallen an: Nadeln und feinnadelige Sterne oder Doppelnadelbüschel, im auffallenden Lichte von blutroter, im durchfallenden von orangeroter Farbe. Neben diesen treten gleichfalls in sehr großer Zahl warzige Sphärite, Prismen, einzeln oder zu mehr oder minder deutlich ausgebildeten Drusen vereint, auf. Alle diese sind im Gegensatz zu den erstgenannten Kristallen farblos. Darunter gibt es allerdings auch solche, die teilweise farblos, teilweise orange erscheinen, vielleicht weil zwei Verbindungen hier zusammen auskristallisieren. Endlich finden sich auch auffallend große, klumpige, farblose Drusen von runder, abgerundet viereckiger oder unregelmäßiger Form. Sehr schöne Kristallisationen erhält man auch, wenn man ein Tröpfchen des Wurzelmilchsaftes auf einem Objektträger über dem offenen Hals einer Salzsäureflasche einige Minuten liegen und dann nach dem Wegnehmen etwas eindunsten läßt. Der frisch austretende Milchsaft der Wurzel ist dunkelorangerot, der der Blätter eigelb. An der Luft wird er alsbald dunkler, schließlich siegellackrot. Entsprechend der helleren Farbe des Blattmilchsaftes sind auch die farbigen, mit Salzsäure erhaltenen Kristalle viel heller gelb als die entsprechenden des Wurzelmilchsaftes.

Ganz ähnliche Kristallisationen wie mit Salzsäure werden erhalten mit mäßig oder ganz konzentrierter Schwefelsäure oder Salpetersäure, wobei offenbar die entsprechenden Salze der Alkaloide entstehen.

Werden frische Radialschnitte durch die Wurzel mit 10proz. Salzsäure behandelt, so wird der orangerote Milchsaft großenteils in Kristalle von orangeroter oder gelbbrauner Farbe derselben Art umgewandelt wie die eben beschriebenen. Die Kristalle entstehen nur in den Milchröhren oder da, wo der Milchsaft sich aus aufgeschnittenen Röhren über die Umgebung ergossen hat. Zumeist entstehen Nadeln, Sterne oder Prismen, und zwar in so großer Menge, daß nunmehr der Verlauf der Milchröhren durch kontinuierliche Züge von Kristallen angedeutet wird (Fig. 97).

Die unter den beschriebenen Verhältnissen entstehenden Kristalle dürften wohl von den genannten Alkaloiden herrühren. Wir sind zwar

bei dem derzeitigen Mangel an passenden mikrochemischen Unterscheidungsmitteln zwischen den Chelidoniumalkaloiden heute außerstande zu sagen, welche von den Kristallen diesem oder jenem Alkaloid angehören, aber aus den geschilderten und noch zu erwähnenden Befunden dürfte es erlaubt sein, den Schluß abzuleiten, daß die Alkaloide von Chelidonium in dem Milchröhrensystem größtenteils oder völlig lokalisiert sind und daß sie hier in Form einer ungemein konzentrierten Lösung und in großer Menge vorkommen.

Beiläufig sei erwähnt, daß der Milchsaft mit Jodchloralhydrat am Rande des Milchsafttropfens unter Deckglas nadel-, stern, garben- oder eisblumenartige Kristallaggregate erscheinen läßt, die sich vorübergehend tiefblaugrün, hinterher aber braun färben. Mit den reinen Alkaloiden (Sanguinarin, Chelerythrin, Chelidonin) erhielt ich diese Farbenreaktion nicht, weshalb ich denn auch über den die Reaktion hervorrufenden Körper nichts zu sagen vermag.

Fig. 97.
Milchröhren aus der Wurzelrinde von Chelidonium majus L. Nach Behandlung mit 10proz. Salzsäure fallen Alkaloide in den Milchröhren in Form von Kristallen oder Kristallaggregaten aus. Vergr. etwa 150.

Sanguinaria canadensis L. In dem knollig verdickten Wurzelstock hat man bekanntlich gleichfalls mehrere Alkaloide festgestellt: Chelerythrin, Sanguinarin, Homochelidonin und Protopin. Als ich im Frühjahr zur Zeit des Austreibens Schnitte durch das Rhizom mit 10proz. Salzsäure behandelte, entstanden in den durch ihren blutroten Milchsaft ausgezeichneten Milchröhren zahlreiche Nadelsterne von braunroter Farbe, und zwar innerhalb der Milchsaftbehälter. Es ist bekannt, daß die als Chelerythrin und Sanguinarin bezeichneten Alkaloide sich von sämtlichen, bisher isolierten Papaveraceenbasen durch ihre intensiv gefärbten Salze unterscheiden. So besitzen die Salze des an sich farblosen Chelerythrins eine eigelbe, die der farblosen Base Sanguinarin eine intensiv rote Farbe. Daher wird es verständlich, warum die stark gefärbten wässerigen Lösungen der Chelerythrin- und Sanguinarinsalze bei Behandlung mit Ammoniak unter Abscheidung eines weißen flockigen Niederschlags vollständig entfärbt werden. So wird auch begreiflich, warum der Milchröhreninhalt von Sanguinaria und Chelidonium infolge von Ammoniak ziemlich verblaßt oder entfärbt und die Farbe durch Salsäure wieder restituiert wird. Dasselbe gilt auch für die gefärbten Salze der beiden genannten Basen. Aus dem Gesagten erhellt mit Wahrscheinlichkeit, daß die bei Chelidonium und Sanguinaria mit Salzsäure im Milchsafte oder in den Milchröhren erhaltenen gefärbten Kristalle entweder dem Chelerythrin oder dem Sanguinarin oder beiden angehören.

Bocconia cordata Willd. Die in der Wurzel vorhandenen zahlreichen, zumeist recht kurzen Milchzellen enthalten orangeroten Milchsaft. Auch hier läßt sich ein großer Teil des Milchsaftes mit 10proz. Salzsäure in orangerote Kristalle umwandeln. Es entstehen

entweder zahlreiche Nädelchen oder Nadelsterne; nicht selten verwandelt sich der größte Teil des Milchsaftes mit 10proz. Salzsäure in strahlige Sphärite. Der Nachweis gelingt in Schnitten nicht immer, dagegen sicher im Milchsaft junger Blätter. Ein Tröpfchen des dunkelroten Milchsaftes, einige Minuten über den Hals einer Salzsäureflasche gehalten, liefert fast einen Brei von Tausenden von orangeroten Nadeln, sternartigen Nadelaggregaten und Doppelpinseln. Da in Bocconia frutescens Chelerythrin nachgewiesen wurde und da die mit Bocconia erhaltenen Kristalle sich so verhalten wie die entsprechenden von Chelidonium und Sanguinaria, so dürften die gewonnenen Kristalle bei Bocconia dem salzsauren Chelerythrin angehören.

Eschscholtzia californica Cham. In derselben Weise wie bei Chelidonium entsteht in den Wurzelmilchröhren auf Zusatz von Salzsäure alsbald ein Niederschlag von orangeroten Kristallen, und da in Eschscholtzia Chelerythrin nachgewiesen wurde, so dürfte wohl anzunehmen sein, daß diese Kristalle aus salzsaurem Chelerythrin bestehen.

Argemone mexicana L. Der eigelbe, an der Luft rasch nachdunkelnde Milchsaft gibt mit mäßig konzentrierter Schwefelsäure oder Salpetersäure unter Deckglas eine Unmenge von gelben Kristallen, die zumeist Nadeln, Prismen oder Aggregate von solchen darstellen. Das Verhalten des Milchsaftes den Alkaloidgruppenreaktionen gegenüber, durch welche reichlich Fällungen hervorgerufen werden, sowie der Umstand, daß auch hier unter denselben Umständen wie bei früher behandelten Papaveraceen gelbe Kristalle entstehen, machen es wahrscheinlich, daß auch diese Kristalle einem Alkaloid angehören.

Papaver-Arten. Der Milchsaft, insbesondere der aus den unreifen Früchten von Papaver somniferum ist bekanntlich ein Reservoir der verschiedensten Alkaloide. Über ein Drittel des Opiums besteht aus kristallisierten Stoffen, darunter prävaliert als der wichtigste therapeutische Körper das Morphin, das rund 5 bis 13% ausmachen kann. Bei dieser Sachlage darf es nicht wundernehmen, daß bei der direkten Behandlung des frischen Milchsaftes mit verschiedenen Stoffen oft reichlich Kristalle entstehen. So bildete sich bei Behandlung des Milchsaftes von Papaver orientale L. und P. somniferum mit mäßig oder ganz konzentrierter Salzsäure oder Schwefelsäure eine große Menge von farblosen prismatischen, spießigen oder sternartigen Kristallaggregaten einer mir unbekannten Substanz. Interessant ist auch, daß bei Einwirkung von Salpetersäure der Milchsaft von Papaver orientale L. (jedoch nicht der von P. somniferum) sofort eine dunkelviolettpurpurne Färbung annimmt, die alsbald in Braun übergeht. Von welchem Körper diese auffallende Reaktion ausgeht, vermag ich derzeit nicht zu sagen.

Über die Alkaloide von Papaver somniferum verdanken wir mikrochemische Untersuchungen Clautriau (III). Im allgemeinen wurden Gruppenreaktionen angewendet, in einzelnen Fällen auch Spezialreaktionen. Mit Hilfe der letzteren läßt sich nach Clautriau Morphin sicher, Narkotin mit Wahrscheinlichkeit nachweisen, hingegen bleibt der Nachweis von Thebain, Papaverin, Codeïn und Narceïn unsicher. Auf die Anwesenheit des Morphin glaubt Clautriau aus der Tatsache schließen zu dürfen, daß der Milchsaft mit den allgemeinen Reagentien Fällungen gibt, Jodsäure reduziert, sich mit einer Lösung

von Titansäure in Schwefelsäure (2:100) rotbraun und mit einer solchen von Methylal in Schwefelsäure (5 Tropfen M. auf 1 ccm konz. Schwefelsäure) intensiv violett färbt. Die Anwesenheit von Narkotin hält der Genannte für wahrscheinlich, weil eine Lösung von kohlensaurem Natron in Schwefelsäure den Milchsaft rotorange färbt, wie dies von Gemischen von Morphin und Narkotin bekannt ist.

Die Alkaloide finden sich bei Papaver somniferum nach Clautriau nicht bloß im Milchsafte, sondern auch in der Epidermis, besonders der der Frucht. Gegen die Basis der Pflanze nimmt der Alkaloidgehalt ab, die Wurzelepidermis erscheint frei davon. Die Alkaloide fehlen den Samen und jungen Pflanzen, sobald diese aber eine Länge von 10 bis 15 cm erreicht haben, treten sie auf. Sodann nimmt der Alkaloidgehalt zu, bis zur Sommerreife, wo er ein Maximum erreicht. Beim Absterben der Pflanze und dem Trockenwerden der Frucht verschwinden die Alkaloide (Clautriau III).

Aus meinen Untersuchungen über den Milchsaft der Papaveraceen geht hervor, daß nicht bloß bei Papaver somniferum der Milchsaft den Hauptsitz von Alkaloiden bildet, sondern daß der Milchsaft aller geprüften Papaveraceen (Chelidonium, Sanguinaria, Bocconia, Argemone, Eschscholtzia) ein Reservoir für zumeist giftige Pflanzenbasen darstellt und daß diese hier in relativ so konzentrierter Lösung vorkommen, daß sie sich, entsprechend behandelt, leicht in Form deutlich kristallisierter Salze nachweisen lassen (Molisch II, 77).

7. Die Alkaloide von Corydalis.

Aus den Knollen der Corydalis cava wurden bereits sechs Alkaloide dargestellt, unter denen der Menge nach das Corydalin überwiegt.

Corydalin, $C_{22}H_{27}NO_4$.

Kristallisiert aus Alkohol in sechsseitigen Prismen. Es ist in Wasser und Alkalien unlöslich, ziemlich löslich in Äther, Chloroform und Benzol.

Zopf (I) und Heinricher (I) haben seinerzeit nachgewiesen, daß die Vertreter der Familie der Fumariaceen in ihren Organen Idioblasten enthalten, deren Inhalt anfangs nicht recht erkannt wurde. Es sind dies meist mehr oder minder langgestreckte Zellen von etwa 2—10 mm Länge, mit farblosem, gelbem oder rotem Inhalt. In der Knolle von Corydalis cava sind sie kurz, fast isodiametrisch und haben einen gelben homogenen Inhalt (Fig. 98). Zopf hielt die Schlauchzellen zuerst für Gerbstoffbehälter, Heinricher erklärte diese Bezeichnung mit gutem Grunde für nicht berechtigt, da die Behälter meist Gerbstoff gar nicht führen und erblickte den charakteristischen Bestandteil in fettem Öl. Endlich wurden sie von Zopf (II) als Alkaloidbehälter angesprochen. Er zeigte, daß der gelbe Inhalt der Idioblasten von Corydalis cava durch Ammoniak und durch die allgemeinen Alkaloidreagentien gefällt wird. Obwohl die Fällungen nicht bloß in den Idioblasten, sondern auch in den übrigen Gewebeelementen eintreten, so entsteht der Hauptniederschlag doch in den Schlauchzellen, und deshalb schließt Zopf, daß hauptsächlich diese das Corydalin enthalten. Ich

möchte sagen. Alkaloid oder Alkaloide enthalten, da es ja zum mindesten sechs Alkaloide in Corydalis cava gibt und wir vorläufig nicht wissen, von welchem Alkaloid oder Alkaloiden die Fällung herrührt. Wenn die Idioblasten von Corydalis cava wirklich Alkaloidbehälter sind, so ist es in hohem Grade wahrscheinlich, daß auch die Idioblasten der anderen Corydalis-Arten und Fumariaceen (Fumaria, Diclytra, Adlumia usw.) Alkaloide führen, und es wäre eine dankbare Aufgabe, diese makro- und mikrochemisch anzugehen.

Nach den Untersuchungen von Zopf (II, 117) enthalten die Idioblasten von Corydalis cava neben dem Alkaloid auch noch gefärbte Harzsäuren, wasserlösliche gefärbte Stoffe, Fett und Zucker.

8. Die Alkaloide der Rubiaceen.

Die Rinden der drei Gattungen Cinchona, Ladenbergia und Remija enthalten eine große Zahl von Alkaloiden, von denen als die wichtigsten nur das Chinin ($C_{10}H_{24}N_2O_2$), Cinchonin, Cinchonidin und Cinchotin genannt seien. Mikrochemisch wurden die Alkaloide in Cinchona hauptsächlich von Lotsy (I, II) untersucht und auf Grund der allgemeinen Reaktionen, namentlich der Jodjodkaliumlösung erhielt er folgende Resultate. Die Epidermis der Blätter führt keine Alkaloide, das chlorophyllfreie Hypoderma aber sehr viel. Unentwickelte Blätter enthalten im Mesophyll kein Alkaloid, entwickelte hingegen im ganzen Mesophyll reichlich. Zellen, die Calciumoxalat enthalten, sind frei davon. Das Alkaloid findet sich im allgemeinen im jungen Gewebe des Vegetationspunktes im Zellsaft gelöst vor, im älteren Gewebe, z. B. in der sekundären Rinde, tritt es in amorphem, festem Zustande auf. Die Siebröhren enthalten kein Alkaloid.

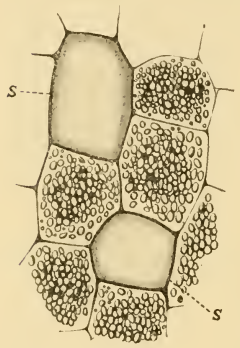


Fig. 98.
Corydalis cava.
Parenchym aus der Knolle mit Stärkezellen und zwei Idioblasten *s*. Vergr. 250.

Ob die Alkaloide durch die von Behrens (I, 91) angegebenen Reaktionen und durch Mikrosublimation direkt im Gewebe mikrochemisch nachweisbar sind, muß erst untersucht werden.

Emetin und Cephaëlin.

Diese beiden Alkaloide kommen in der offizinellen Brechwurzel von Cephaëlis Ipekakuanha vor.

Emetin, $C_{30}H_{40}N_2O_5$. Weißes amorphes Pulver von bitterem, kratzendem Geschmack, löst sich leicht in Benzol, Chloroform, Methyl- und Äthylalkohol, Äther, Petroläther, schwer in Wasser.

Cephaëlin, $C_{28}H_{40}N_2O_4$. Kristallisiert aus Äther in feinen, weißen Nadeln. Ist sehr unbeständig und färbt sich bald gelb.

Mikrosublimation. Tunmann (I, 166) benutzt etwa 0,05 g Pulver der Wurzel, verreibt es mit zwei kleinen Tropfen Wassers auf einer Glasplatte flach zu einem Brei in Größe eines Pfennigstückes.

Es werden mehrere Sublimate aufgefangen, die bei höherer Temperatur (58—115°) gewonnenen enthalten die beiden Alkaloide. Neben braunen Teerprodukten zeigen sich 1. farblose bis schwach gelbliche Tröpfchen mit Einschlüssen von noch stärkerer Lichtbrechung, und 2. zahlreiche dunkelbraune Körnchen. Die hellgelblichen Sublimationströpfchen enthalten das Cephaëlin. Sie geben mit allgemeinen Reagentien die entsprechenden Fällungen, beweisend aber für ihre Reaktion ist ihr Verhalten zu Molybdänschwefelsäure. Sie nehmen darin, wenn ich Tunmann recht verstehe, für kurze Zeit eine tiefbraune, dann eine intensiv rote Farbe an, während die im Sublimat regellos verteilten dunklen Ausscheidungen, die das Emetin enthalten, sich in dem genannten Reagens mit grüner Farbe lösen sollen. Der Nachweis der beiden Alkaloide in Schnitten bereitet Schwierigkeiten, ich verweise diesbezüglich auf die Arbeit von Tunmann.

9. Die Alkaloide der Loganiaceen.

Hierher gehören das Brucin, Strychnin und mehrere Curare-Alkaloide.

a) Brucin, $C_{32}H_{26}N_2O_4$.

Vorkommen.

Neben Strychnin in den Samen und in der Rinde von Strychnos nux vomica (falsche Angosturarinde) und in den Ignatiusbohnen, den Samen von Strychnos Ignatii.

Eigenschaften. Kristallisiert in wasserhellen monoklinen Prismen, perlmutterglänzenden Blättchen oder in blumenkohlähnlichen Massen, die an der Luft leicht verwittern. Schmeckt anhaltend sehr bitter und ist überaus giftig. In Wasser und Alkohol löst es sich leichter als das Strychnin. Mit Salpetersäure und verschiedenen anderen oxydierenden Mitteln nimmt die Base eine rote Färbung an, die beim Erwärmen in Gelb umschlägt. Diese Reaktion kann auch umgekehrt beim Nachweis der Salpetersäure angewendet werden, selbst wenn nur sehr wenig Nitrat vorhanden ist, wie im Trinkwasser (vgl. p. 90).

Mit dem mikrochemischen Nachweis des Brucins (und des Strychnins) haben sich bereits mehrere Forscher beschäftigt [Lindt (I), Clautriau (II), Elfstrand (I), Tschirch-Oesterle (I), Gerock und Skiparri (I), Barth (I), Klein (I) und Wasicky (I)], ohne daß in allen Punkten Klarheit gewonnen worden wäre. Lindt versuchte den Nachweis in folgender Weise zu führen:

Die Schnitte der Strychnos-Samen wurden zunächst durch Petroläther und Alkohol von Fett befreit und dann unterm Deckglas mit Selensäure, die mit etwas Salpetersäure versetzt wurde (5 Tropfen Selensäure von 1,4 spez. Gew. und 1 bis 2 Tropfen Salpetersäure von 1,2 spez. Gew.), behandelt. Es färben sich dann angeblich die Zellwände rasch hellrot, allmählich orange und gelb, während der Zellinhalt ungefärbt bleiben soll.

Das Ausziehen der Schnitte durch Petroläther und Alkohol ist nicht am Platze, da die Alkaloide dabei leicht mit in Lösung gehen, auch können sie bei der Extraktion in die Membranen eindringen, hier zurückbehalten werden und dann die Reaktion auch in der Membran hervorrufen. Lindts Ansicht, daß das Brucin und Strychnin

in der Membran liege, ist auf Grund der Untersuchungen der eben genannten Forscher allgemein aufgegeben worden. Am eingehendsten hat sich mit dem Nachweis des Brucins Barth (I, 374) beschäftigt. Er kam mit den Gruppenreaktionen und einigen auf p. 303 beschriebenen Farbenreaktionen zu dem Ergebnis, daß das Brucin im Inhalte aller Endospermzellen neben Strychnin und im Embryo allein vorhanden sei.

β) Strychnin, $C_{21}H_{22}N_2O_2$.

Vorkommen.

In den Ignatiusbohnen Strychnos Ignatii Bg., in den Brechnüssen oder Krähenaugen, d. h. den reifen Samen von Strychnos nux vomica und in dem Wurzelholze von Strychnos colubrina.

Eigenschaften. Kristallisiert aus Alkohol in kleinen rhombischen Prismen. Fast unlöslich in Wasser, schwer löslich in den gewöhnlichen organischen Lösungsmitteln. Es hat einen metallischen, sehr bittern Geschmack und gehört zu den heftigsten Pflanzengiften.

Mikrochemisch versuchte Lindt (I) Strychnin nachzuweisen, indem er die Schnitte zunächst wiederholt mit Petroläther und absolutem Alkohol behandelte, um sie von Fett, Traubenzucker und Brucin zu befreien und dann mit einer Lösung von schwefelsaurem Ceroxyd in Schwefelsäure versetzte. Es färben sich dann die Zellhäute mehr oder minder violettblau, der Zellinhalt bleibt vorläufig farblos. Dieser Zustand bleibt nur kurze Zeit erhalten, dann verschwindet die violette Färbung, und nun nimmt der Zellinhalt einen bläulich-rotvioletten Farbenton an, der aber auch mit Schwefelsäure allein eintritt und wohl auf die Raspailsche Zucker-Eiweiß-Reaktion zurückzuführen ist.

Wenn man in eine Lösung des Strychnins in Schwefelsäure ein einziges Körnchen von kristallisiertem Kaliumbichromat bringt, so entstehen in seiner Nähe blaue bis violette Streifen, die später in Grün übergehen können. Diese sehr empfindliche Reaktion läßt sich nach Rosoll (II, 17) sehr gut verwerten, um das Strychnin direkt im Gewebe nachzuweisen. Werden Schnitte durch das Endosperm von Strychnos mit reiner konzentrierter Schwefelsäure behandelt, so tritt infolge des Eiweißgehaltes des Zellinhaltes zunächst eine rosenrote Färbung, die Raspailsche Reaktion, ein. Fügt man aber zu einem mit Schwefelsäure behandelten Schnitt ein Körnchen Kaliumbichromat hinzu, so färben sich schon nach wenigen Minuten sämtliche im Zellinhalte vorhandenen Öltröpfchen schön violett oder blauviolett. Rosoll ist daher, im Gegensatz zu Lindt (I), der Ansicht, daß das Alkaloid in den Strychnos-Samen im Inhalte der Endospermzellen, und zwar in den Öltröpfchen aufgelöst vorkommt. Wenn Lindt angibt, daß das Alkaloid in der Membran und nicht im Zellinhalt liegt, so beruht dies auf irrtümlichen Beobachtungen. Lindt hat den Schnitt vor der Reaktion zur Beseitigung des Fettes mit Petroläther behandelt, dabei aber übersehen, daß das Alkaloid, obwohl es für sich in Petroläther unlöslich ist, durch Petroläther doch mit dem Öltropfen aufgenommen und dann von den Membranen zurückbehalten wird (Rosoll II, 17).

Gerock und Skiparri (I, 556) haben aber mit Recht darauf aufmerksam gemacht, daß gegen die Beweisführung Rosolls gewichtige Bedenken bestehen, weil er auch dieselben Farbenreaktionen mit den Samen von Strychnos potatorum erhalten hat, die bekanntlich gar kein Alkaloid enthalten. Das, was Rosoll bei Str. potatorum für eine Strychninreaktion gehalten hat, ist wahrscheinlich gar nichts anderes als die Raspailsche Reaktion gewesen, wie sie mit den alkaloidfreien, aber eiweißreichen Samen von Elaeïs und Phytelephas ebenfalls erhalten wird.

Gerock und Skiparri suchten daher die Lokalisation der Alkaloide in den Samen von Strychnos durch Kaliumquecksilberjodid zu bestimmen. Dünne Schnitte werden in eine Lösung davon eingelegt. Die alkaloidhaltigen Schnitte nehmen darin alsbald ein weißliches trübes Aussehen an, welches in dickeren Schnitten gelblich wird. Werden die Schnitte dann einige Male rasch abgewaschen und in Schwefelwasserstoffwasser gebracht, so nehmen sie hier eine braune bis schwarze Farbe an. Solche Präparate, in Glyzerin eingelegt, lassen an der Schwarzfärbung leicht erkennen, daß die Alkaloide im Zellinhalte und nicht in den Wänden ihren Sitz haben.

Barth bestätigte im wesentlichen diese Befunde. Er wendete die allgemeinen Reaktionen und hauptsächlich folgende Farbenreaktionen an:

Vanadinschwefelsäure färbt eine Lösung von Strychnin zuerst blauviolett; die Farbe geht bald in rotviolett über. Brucin färbt zuerst blutrot, hierauf geht die Farbe bald in orangegelb über.

Konzentrierte Salpetersäure löst Strychnin farblos, Brucin aber mit blutroter Farbe.

Schnitte durch das Endosperm der Samen von Strychnos nux vomica wurden mit Vanadinschwefelsäure violett. Der Embryo gibt nur die schwache Rotfärbung, die Schwefelsäure allein gibt.

Konzentrierte Salpetersäure färbt die Zellinhalte des Endosperms und des Embryo gleichmäßig orange, was auch in letzterem auf die Anwesenheit von Brucin schließen läßt. Nach Barth (I, 406) ist im Zellinhalte aller Endospermzellen sowohl Strychnin als Brucin, nur das letztere aber im Keimling vorhanden. Über das Verhalten der Alkaloide während der Keimung vergleiche man Tunmann (II).

Wasicky (I), dem wir eine kritische Überprüfung der verschiedenen in Vorschlag gebrachten Reagentien verdanken, hat besonders in der Pikrolonsäure ein sehr gutes Mittel zum Nachweis des Brucins und Strychnins gefunden.

Ein Tropfen der wässerigen, gesättigten Pikrolonsäurelösung einem Tropfen wässeriger Strychninnitratlösung (1:100) auf dem Objektträger zugesetzt, bewirkt einen kleinkörnigen Niederschlag, aus dem sogleich kleine, schlanke, doppelbrechende Nadeln aufschießen, die zu gelblichen Dentriten heranwachsen.

Mit Brucinsulfat entsteht unter den gleichen Umständen ein flockiger Niederschlag. Wird jedoch leicht erwärmt, so bilden sich gelb gefärbte, stark polarisierende Kristalle: Rosetten oder Sterne, die sich aus rhombischen oder deltoidähnlichen Tafeln aufbauen. Bringt man in einen Tropfen des wässerigen Reagens einen Schnitt aus dem Strychnos-Samen, so fallen nach leichtem Erwärmen ganz kleine Kristalle aus, die dem Brucin entsprechen. Erwärmt man stärker, so treten

aus Strychnin bestehende Sterne und Rosetten auf, die sich in auffallender Weise gerade an die Zellwände anlegen. Wasicky schließt sich gleichfalls der herrschenden Ansicht an, daß die beiden Alkaloide im Ölplasma der Endospermzellen liegen.

10. Die Alkaloide der Ranunculaceen.

Einige Ranunculaceen enthalten, wie aus mikro- und makrochemischen Untersuchungen hervorgeht, Alkaloide. Mikrochemisch wurden sie am eingehendsten von Vanderlinden (I) studiert. So enthält Caltha palustris ein Alkaloid, das man früher mit Unrecht als Nikotin erklärt hat und das noch nicht rein dargestellt ist. Aus der Gattung Delphinium hat man bereits mehrere Basen gewonnen, aus den Samen von Delphinium Staphisagria bereits vier, darunter das Delphinin $C_{22}H_{35}NO_6$. Von großer Wichtigkeit ist das Aconitin und seine Verwandten. Fast jede Aconitumart hat ihr spezifisches Alkaloid.

Aconitin, $C_{34}H_{47}NO_{11}$.

Vorkommen.

In Aconitum Napellus, besonders in den Wurzelknollen.

Eigenschaften. Kristallisiert aus Alkohol in rhombischen Prismen und Tafeln, aus Chloroform in warzenförmigen Drusen. In Wasser fast unlöslich, schwer löslich in absolutem Alkohol und Benzol, leichter in Äther, unlöslich in Ligroin (J. Schmidt I, 402). Reagiert schwach alkalisch, schmeckt scharf und bitter und ist ungemein giftig.

Der mikrochemische Nachweis in der Pflanze wurde fast nur mit Hilfe der allgemeinen Reagentien geführt. Errera, Maistriau und Clautriau (I, 163) fand es in allen Teilen von Aconitum Napellus, und zwar immer im Zellinhalte. Die Hauptmenge liegt in den Vegetationspunkten und in den Fruchtknoten, eine bedeutende Menge ist auch in der Wurzel, in der Blüte und in den Samen. Im Stamme erscheint es in der Epidermis und im Umkreis der Gefäßbündel. Errera empfahl zum Nachweis des Aconitins auch Schwefelsäure. Aconitinhaltige Schnitte geben mit Schwefelsäure, die mit $^1/_2$—$^1/_3$ Volum Wasser verdünnt wurde, besonders wenn man die Schnitte vorher mit Rohrzuckerlösung befeuchtet hat, eine rotviolette Färbung. Es ist aber meiner Meinung schwer, diese Reaktion von der Raspailschen Eiweißreaktion zu unterscheiden. Später hat Vanderlinden (I) das Alkaloid auch bei A. Lycoctonum und A. Anthora mikrochemisch nachgewiesen und seine Lokalisation untersucht.

11. Berberin, $C_{20}H_{17}NO_4$.

Vorkommen.

Das Berberin ist dadurch unter den Alkaloiden ausgezeichnet, daß es nicht nur in verschiedenen Gattungen derselben Familie, sondern auch in verschiedenen Familien, die im Systeme weit auseinanderstehen, auftritt. Nämlich:

Caesalpineae: Geoffroya jamaicensis. Rinde.

Rutaceae: Xanthoxylon clava Herculis L. Rinde. Toddalia aculeata, Evodia glauca und meliifolia, Orixa japonica. Rinde.

Anonaceae: Coelocline polycarpa. Rinde.

Berberidaceae: Berberis vulgaris und andere Berberis-Arten, Mahonia Aquifolium, Nandina domestica, Leontice thalictroides, Podophyllum peltatum (?), Hydrastis canadensis.

Menispermaceae: Coscinium fenestratum, Chasmanthera cordifolia.

Ranunculaceae: Xanthorhiza apiifolia (Wurzel), Coptis trifolia.

Einzelne dieser Vorkommnisse werden noch zu überprüfen sein.

Eigenschaften. Berberin kristallisiert in gelbbraunen Nadeln oder feinen Prismen. Ist in kaltem Wasser, Chloroform und Benzol wenig, in heißem Wasser und in Alkohol leicht löslich, in Äther, Benzol und Ligroin schwer löslich. Mit Chloroform und Aceton bildet es kristallisierende Verbindungen. Berberin ist schwach basisch, wenig giftig und optisch inaktiv. Seine Salze sind gelb und schmecken bitter.

Mikrochemischer Nachweis.

1. Fügt man zu einem Schnitt durch die Rinde einer mehrere Zentimeter dicken Wurzel von Berberis vulgaris verdünnte Salpetersäure (2 ccm konzentrierte Salpetersäure auf 100 ccm H_2O), so entstehen nach wenigen Minuten überaus zahlreiche gelbe Nadeln, Nadelsterne oder Drusen von salpetersaurem Berberin (Fig. 99). Man kann die Schnitte direkt mit der Säure behandeln (Zimmermann I, 117) oder vorher mit Alkohol benetzen (Herrmann I). Die Behandlung mit Alkohol kann aber wegfallen. Die Kristalle entstehen in ungeheurer Menge im Zelllumen, auf den Wänden und außerhalb des Gewebes im Versuchstropfen. Schon im Jahre 1848 hat Boedecker (I) mit Salpetersäure Berberin mikrochemisch nachgewiesen: eine der ersten mikrochemischen Analysen.

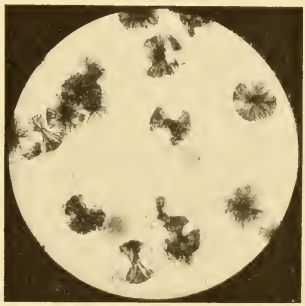


Fig. 99.

Berberinnitrat-Kristalle, gewonnen durch Behandlung eines Schnittes durch die Wurzelrinde von Berberis vulgaris mit verd. Salpetersäure. Vergr. 180.

2. Anstatt der Salpetersäure kann man mit Vorteil verdünnte Schwefelsäure (1—2 proz.) oder verdünnte Salzsäure (1—2 proz.) verwenden; man erhält dann die entsprechenden Salze in ganz ähnlichen gelben Kristallformen wie mit Salpetersäure.

3. Jodtinktur. Schnitte durch den Stengel oder die Wurzel von Berberis vulgaris, mit nicht zu verdünnter Jodtinktur behandelt, bedecken sich fast momentan in der Rinde mit einer Unzahl brauner oder schwarzbrauner Kristallnadeln, Nadelsternen, Dendriten, Klümpchen oder Warzen, die ziemlich lokal auftreten, so daß man durch diese Reaktion sofort über den Hauptsitz des Alkaloids orientiert ist. Diese ausgezeichnete Probe ist bedeutend empfindlicher als die beiden vorhergehenden. Rosoll (I, 20) hat diese Reaktion in anderer Form angewendet. Er sagt: „Die weingeistige Lösung des Alkaloids scheidet

auf Zusatz von Jodjodkalium, wenn in geringer Menge zugefügt, sehr charakteristische, grüne, haarförmige Kristalle, im Überschuß gelbbraune Kristalle ab, die durch unterschwefligsaures Natrium wieder gelöst werden." Auch dieses Verfahren führt zu guten Resultaten, doch gebe ich der Verwendung der Jodtinktur den Vorzug, da man mit einem Reagens auskommt. Die gelbbraunen und die schwarzbraunen Kristalle erscheinen häufig in denselben Präparaten, doch überwiegen die letzteren bei Anwendung konzentrierter Jodlösungen.

4. Bromwasser gibt in den Zellen mit Berberin einen rötlichen amorphen Niederschlag (Tunmann I, 178).

5. Aceton-Berberin. Im Anschluß an Versuche von Gordin (I) hat Bauer (I) die Eigentümlichkeit des Berberins, mit Aceton in alkalischer Lösung eine kristallinische, in Alkalien unlösliche Acetonverbindung zu bilden, benutzt, um Berberin in Schnitten nachzuweisen. Schnitte werden nach Bauer in einigen Tropfen Wasser auf einen Objektträger gebracht, wenige Sekunden liegen gelassen, bis sich das Alkaloid gelöst hat, sodann 1 Tropfen 10proz. Natronlauge hinzugefügt, erwärmt und mit 4 bis 5 Tropfen Aceton versetzt. Es sollen dann die charakteristischen Aceton-Berberinkristalle in Form grünlichgelber, glänzender Schüppchen unterm Deckglas auftreten. Die Kristallbildung, die bald nach 5 Minuten, bald erst nach mehreren Stunden erscheint, kann dadurch beschleunigt werden, daß man erst nach Zusatz des Acetons erwärmt (Bauer I, 356).

Diese Reaktion gab mir gewöhnlich negative oder unsichere Resultate und kann sich mit den Reaktionen 1 bis 3 nicht im entferntesten an Empfindlichkeit und Brauchbarkeit messen.

Lokalisation. Herrmann (I) hat mit Hilfe der Salpetersäurereaktion die Verteilung des Berberins in Berberis vulgaris verfolgt. Ich habe diese Versuche nachgeprüft, aber mit der Salpetersäurereaktion nur in älteren Wurzeln positive Resultate erhalten. Der 1- bis 2jährige Stengel gab mir keine Berberinnitratkristalle, hingegen konnte ich mit Jodtinktur in jungen und alten Wurzeln, Stengeln, ja sogar in jungen austreibenden Blättern das Alkaloid sehr schön nachweisen. Herrmann und Rosoll geben richtig an, daß das Berberin als eine goldgelbe Flüssigkeit viele Rindenparenchym- und Kambiumzellen erfüllt. Hier ist das Berberin am reichlichsten vertreten. Die beiden genannten Forscher haben aus der Gelbfärbung der Bast- und Holzzellmembranen geschlossen, daß die Wände hier Berberin absorbiert hätten. Ich habe aber mit Holz allein keine positive Reaktion erhalten, so daß ich nicht die Überzeugung gewinnen konnte, daß die Gelbfärbung der Holzzellmembranen von Berberin herrührt. Ist in den Membranen Berberin wirklich vorhanden, dann müssen es nur sehr geringe Mengen sein, die sich mit den angeführten Reaktionen nicht mehr nachweisen lassen. Herrmann konnte auch in Jeffersonia diphylla Berberin in Wurzeln und Blättern mikrochemisch feststellen, desgleichen in der Rinde der Colombowurzel, Cocculus palmatus, wo es auch von Rundquist (I) nachgewiesen wurde. Herrmann bediente sich dabei hauptsächlich des Schwefelammoniums, von dem das Alkaloid unter lebhafter Bräunung gefällt werden soll. Es wäre wünschenswert, wenn mit der ausgezeichneten Jodprobe die Rundquist-Herrmannschen Befunde und

auch andere überprüft würden, da das Vorkommen von Berberin in der Colombowurzel bestritten wird.

12. Hydrastin, $C_{21}H_{21}NO_6$.

Vorkommen.

Im Rhizom der kanadischen Gelbwurzel, Hydrastis canadensis neben anderen Alkaloiden (Berberin und Canadin).

Eigenschaften. Das Hydrastin kristallisiert aus der alkoholischen Lösung in rhombischen Prismen aus. Fast unlöslich in Wasser, leicht löslich in Chloroform und Benzol, schwer löslich in Äther und Alkohol. Reagiert alkalisch, ist wenig giftig.

Der mikrochemische Nachweis kann 1. nach den Erfahrungen von Grutterink (II, 196) und besonders von Tunmann (I) durch Sublimation erbracht werden. Etwas Hydrastispulver (0,05 g) wird mit etwas Wasser versetzt, zu einem Brei verrieben und auf einer Glasplatte flach gestrichen. Im Sublimat erscheinen gelbe homogene Massen und verschiedene Kristallformen. „Hier und da entstehen in den Tropfen feine Kristallnadeln, ferner charakteristisch ausgebildete Plättchen von prismatischer Natur, überwiegend kommt es aber zur Bildung von dendritischen Formen. Die Kristalle sind rein weiß (farblos), polarisieren gelb, die großen regenbogenfarbig. Die einzelnen Individuen sind kleine Stäbchen und Täfelchen, die, kleine Zwischenräume untereinander lassend, in Reihen perlschnurartig angeordnet sind. Die einzelnen Reihen und Strahlen wiederum sind zu ‚Sonnen' und büschelartigen Bildungen vereint" (Tunmann I, 173). Die erhaltenen Kristalle zeigen die Eigenschaften des reinen Hydrastins; sie lösen sich in Chloroform, Benzol und geben folgende Farbenreaktionen: konzentrierte Schwefelsäure löst farblos, Vanadinschwefelsäure orangefarben und Ammoniummolybdat-Schwefelsäure erst farblos, dann grünlich-blau, schließlich bleibend blau. Die gelben Sublimationsmassen bestehen aus Berberin, wie sich aus den Reaktionen mit Salpetersäure und Jod ergibt. Ist die Droge wenig gehaltreich, so lege man auf den Anflug ein Deckglas, füge Chloroform hinzu und lasse über Nacht liegen. Es treten dann stets rein weiße, bis 400 μ große Hydrastinkristalle auf, die in Regenbogenfarben oder gelb polarisieren (Tunmann I, 176).

2. Tunmann (I, 178) hat gefunden, daß man auch ohne Sublimation das Hydrastin aus der Droge in Kristallform zur Anschauung bringen kann, wenn man 0,01 g Pulver oder zwei kleine Schnitte mit verdünnter Salzsäure (1 : 10) durchfeuchtet, mit dem Deckglas bedeckt und Chloroform zusetzt. Schon nach 3—5 Minuten erscheint nach teilweiser Verdampfung des Chloroforms das Hydrastin in weißen Prismen um das Präparat herum. Am Deckglasrande finden sich gelbe Zonen von abgeschiedenem Berberin.

Tunmann kommt zu dem Ergebnis, daß das Berberin bei Hydrastis nur im Zellinhalt auftritt und, entgegen der Ansicht von Rosoll, die Membranen der Libriformfasern alkaloidfrei sind. Das Berberin ist bei Hydrastis ausschließlich im Parenchym lokalisiert. Am reichsten daran ist die primäre Rinde, weniger reich das Mark. Das Hydrastin tritt in denselben Parenchymzellen zusammen mit dem Berberin auf, doch ist die Lokalisation hier viel schwieriger aufzudecken.

da die Reaktionen viel undeutlicher sind. Die besten Resultate erhielt Tunmann mit Ammoniummolybdat-Schwefelsäure und frischen Schnitten. Es bildet sich dann im Inhalte der Hydrastinzellen nach einigen Stunden ein lebhaft blaues Gerinnsel.

13. Colchicin, $C_{22}H_{25}NO_6$ (nach Zeisel).

Vorkommen.

In den Blüten, den Blättern, der Frucht, hauptsächlich aber in den Knollen (0,2%) und Samen (0,4%) der Herbstzeitlose, Colchicum autumnale.

Eigenschaften. Bildet eine amorphe, hellgelbe, gummiartige Masse, löst sich leicht in kaltem Wasser, Alkohol und Chloroform, kaum in Äther; schmeckt bitter und ist giftig.

Mikrochemischer Nachweis. Errera, Maistriau und Clautriau (I) haben die Verteilung des Colchicins in der Pflanze durch allgemeine Gruppenreaktionen und vornehmlich durch folgende zwei Spezialreaktionen (a und b) untersucht.

a) Konzentrierte Schwefelsäure färbt Colchicin intensiv gelb.

b) Ein Tropfen Salpetersäure oder einer Kaliumnitratlösung zu einer Lösung von Colchicin in konzentrierter Schwefelsäure hinzugefügt, bewirkt eine braunviolette Färbung, die wieder rasch blaßgelb wird. Setzt man jetzt Kalilauge hinzu, so entsteht eine rote Färbung.

Beide Reaktionen gelingen auch mit Schnitten. Läßt man auf einen Querschnitt durch die heurige Knolle verdünnte Schwefelsäure (1 Schw., 2—3 W.) einwirken, so bemerkt man eine schöne Gelbfärbung in den Epidermiszellen und in denjenigen Zellen, die die Gefäßbündel unmittelbar umgeben. Die anderen Zellen bleiben ungefärbt. Schon wenn man die sich gelbfärbenden Zellen vor der Reaktion mit der Lupe betrachtet, bemerkt man an ihnen einen leichten gelbgrünlichen Stich, der an die Färbung einer wässerigen Colchicinlösung erinnert. Mit diesem Befund stimmen auch die anderen Reaktionen.

Lokalisation. Der blatttragende Stengel ist sehr reich an Colchicin in der Oberhaut und in der Umgebung der Gefäßbündel. Auch die Epidermis des Blattes führt viel Colchicin. Die Frucht enthält es in der Oberhaut und der Same im Endosperm. Diese von Errera und seinen Mitarbeitern gewonnenen Ergebnisse wurden aber bezüglich der Samen nicht bestätigt. Blau (I) bestreitet die Anwesenheit des Colchicins im Samenkern und bezeichnet die braune Samenschale als den alleinigen Sitz des Alkaloids im Samen. Dieser Befund verdient volle Beachtung, weil er auf mikro- und makrochemischem Wege gewonnen wurde. Künftige Untersuchungen werden darauf zu achten haben, ob die Samen reif oder unreif sind, denn es wäre möglich, daß sich dann Unterschiede in der Verteilung zeigen, da Barth (I) in unreifen Samen das Alkaloid der Hauptmenge nach in der Schale, in reifen Samen in der Schale und anscheinend in kleiner Menge im Öl des Embryo und des Endosperms nachgewiesen hat. Innerhalb der Schale ist das Colchicin nach Blau auf die beiden innersten direkt an das Endosperm angrenzenden und mit diesem verwachsenen, tangential gestreckten Zellreihen (Pigmentschicht) beschränkt.

14. Veratrumalkaloide.

Die Liliaceen Veratrum Sabadilla und V. album enthalten eine ganze Reihe von Alkaloiden (Winterstein-Trier I). Die Samen von V. Sabadilla, die Sabadillsamen führen 1. das sogenannte „kristallisierte Veratrin“ oder Cevalin, 2. das „amorphe Veratrin“ oder Veratridin und 3. das Sabadillin oder Cevadillin. Diese drei Basen wurden früher als „Veratrin“ zusammengefaßt. Es gibt noch andere Basen darin, aber die sind weniger gut untersucht. Der Wurzelstock von V. album führt neben geringen Mengen von „Veratrin“ noch wenigstens fünf weitere Basen, die als Abbauprodukte des „Veratrins“ betrachtet werden können. Nämlich Jerverin, Rubijervin, Pseudojervin, Protoveratrin und Protoveratridin, welch letztes aber wahrscheinlich in dem Rhizom nicht vorgebildet ist.

Das Protoveratrin $C_{32}H_{51}NO_{11}$ ist der wirksame, sehr giftige Bestandteil der „weißen Nießwurz“ (V. album); kristallisiert in Täfelchen, ist fast in allen Lösungsmitteln schwer löslich. Relativ leicht löslich in Chloroform und heißem Alkohol. Reizt zum Nießen.

Mikrochemischer Nachweis. Borščow (I, 38) hat versucht, das „Veratrin“ direkt im Gewebe von Veratrum album nachzuweisen, indem er Schnitte mit konzentrierter Schwefelsäure, der das doppelte Vol. Wasser zugesetzt war, behandelte. Eine Lösung von „Veratrin“ färbt sich mit Schwefelsäure gelb, dann rotorange (morgenrot) und schließlich violettrot. Diese Reaktion will nun der Genannte auch mit Schnitten erhalten haben, und zwar in der Wurzel (Epidermis und Schutzscheide), der Stengelachse und in den Zwiebelschuppen (Epidermis). Das meiste „Veratrin“ soll in den Zellhäuten vorhanden sein. Nach dem heutigen Stand unserer Kenntnisse wird man Borščows Befunde sehr skeptisch betrachten müssen, denn die violettrote Färbung mit Schwefelsäure ist leicht mit der Raspailschen Reaktion zu verwechseln und überdies war B. im Glauben, daß nur ein Alkaloid vorhanden sei, während wir heute wissen, daß das, was man früher unter Veratrin verstanden hat, ein Gemisch von Basen ist.

Rundquist (I, 117) hat mit Phosphorwolframsäure und Ammoniummolybdat an frischem und trockenem Material den Sitz der Alkaloide zu erforschen sich bemüht und gefunden, daß in Präparaten aus Rhizom und Nebenwurzeln das Alkaloid nur in den stärkeführenden Parenchymzellen zu finden ist und zwar besonders in denen, die an die alkaloidfreien Epidermiszellen stoßen. Die Elemente des Zentralzylinders und der Epidermis waren frei davon. Niemals enthielten die Membranen Alkaloid. Die Verteilung des Alkaloids in der Stengelachse ist ähnlich wie im Rhizom, doch ist hier die Menge viel geringer. Das wenigste Alkaloid enthalten nach Rundquist die Zwiebelschuppen und die Blätter.

15. Die Alkaloide der Puringruppe

sind dadurch ausgezeichnet, daß ihre Stammsubstanz das Purin ist, eine nicht natürlich vorkommende Base, die aber von E. Fischer aus der Harnsäure (2, 6, 8-Trioxypurin) dargestellt wurde. Es gehören hierher das Xanthin, Theobromin, Theophyllin, Kaffeïn, Hypoxanthin und Adenin.

Kaffeïn, $C_8H_{10}N_4O_2$.

Vorkommen.

Interessant dadurch, daß es nur wenigen Pflanzengattungen eigentümlich ist, die sehr verschiedenen Pflanzenfamilien angehören.

Rubiaceae: Coffea arabica. Besonders im Samen.

Theaceae: Thea chinensis. Besonders im Blatt.

Sterculiaceae: Sterculia acuminata (Kolanuß). Besonders in der Frucht. St. platanifolia, Theobroma Cacao.

Sapindaceae: Paullinia sorbilis. Frucht.

Aquifoliaceae: Ilex paraguayensis und zahlreiche andere Ilex-Arten (Cador I), Paraguaythee oder Maté-Blätter.

Eigenschaften. Kann künstlich aus Harnsäure dargestellt werden. Ist Trimethylxanthin. Kristallisiert mit 1 Mol. Wasser in langen seidenglänzenden Nadeln. Schwer löslich in kaltem Wasser, leicht in heißem, in Chloroform und Benzol, schwer löslich in Alkohol und Äther. Die Lösung ist optisch inaktiv. Kaffeïn ist wenig bitter, schwach giftig und geruchlos.

Mikrochemischer Nachweis.

1. Ein oder mehrere dünne Schnitte durch die Kaffeebohne werden auf dem Objektträger in ein Tröpfchen konzentrierte Salzsäure gelegt, nach etwa einer Minute ein Tröpfchen Goldchlorid (3proz., nicht mehr) hinzugefügt und dann unterm Mikroskop bei schwacher Vergrößerung eingestellt. Sobald ein Teil der Flüssigkeit verdampft ist, schießen am Rande des Tropfens mehr oder minder lange, gelbliche, zumeist büschelförmig ausstrahlende Nadeln von charakteristischem Aussehen an. Ganz dasselbe geschieht, wenn man einen Kaffeïnkristall in einem Tröpfchen Salzsäure löst und dann Goldchlorid hinzugibt. Bei Verwendung etwas konzentrierterer Kaffeïnlösungen fallen sofort nadelartige Kristalle oder Kristallaggregate aus. Diese von mir (Molisch 1, 7) eingeführte mikrochemische Reaktion wurde seither von Hanausek (I), Cador (I), Nestler (I) und anderen vielfach mit Erfolg verwendet, doch ist darauf zu achten, daß die bei der Reaktion entstehenden Nadeln des chlorwasserstoffsauren Kaffeïngoldchlorids sehr feinspitze Enden besitzen und büschelig ausstrahlen. Sie dürfen, worauf Hanausek (I) aufmerksam gemacht hat, mit jenen Kristallen, die aus Goldchlorid und Salzsäure allein, also ohne Kaffeïn entstehen, nicht verwechselt werden, diese haben nie spitze Enden und zeigen nie büschelig ausstrahlende Nadeln, sondern

Fig. 100.
Kaffeïnkristalle, gewonnen durch Mikrosublimation aus den Samen von Coffea arabica. Vergr. 180.

bestehen aus teils sehr kurzen, zickzackartig angeordneten, teils auffallend langen, zarten gelben Stäbchenprismen und aus Tafeln mit rechtwinkeligen Vorsprüngen.

2. Ich lege einige Schnitte auf den Objektträger in einen Tropfen dest. Wassers, erwärme ihn eben bis zum Aufwallen und lasse den Rest bei gewöhnlicher Temperatur langsam verdampfen. Sieht man nun unterm Mikroskop nach, so gewahrt man von Kaffeïnkristallen nichts, offenbar deshalb, weil in dem etwas gelatinösen Extrakt die Kristallisation verhindert wird. Gibt man aber zu dem Rückstand ein Tröpfchen Benzol, so nimmt es das Kaffeïn auf und läßt es beim Verdampfen am Rande des Tropfens zu Hunderten von Kristallen in Form farbloser Nadeln herausfallen. Diese zeigen alle Eigenschaften des Kaffeïns (Molisch I, 8).

3. Nestler (I) zeigte, daß man durch Sublimation direkt aus dem Gewebe das Kaffeïn gewinnen kann. Einige kleinere Schnitte durch eine intakte Kaffeebohne oder ein gerolltes Blattfragment käuflichen Tees von 1 cm Länge, das in der Reibschale verrieben wird, werden der Mikrosublimation unterworfen. Man erhält alsbald (5—15 Min.) Anflüge, die aus Hunderten von bis 50 μ langen Nadeln bestehen (Fig. 100).

Nestler hat das Sublimationsverfahren für alle kaffeïnhaltigen Genußmittel (Tee, Maté, Kaffee, Kola, Guarana) ausprobiert und es überall so verwendbar gefunden, daß es gegenwärtig in der Praxis, insbesondere bei der Untersuchung von den erwähnten Genußmitteln zu großem Ansehen gelangt ist.

Lokalisation. Alle erwähnten Kaffeïnproben haben aber, trotz ihrer Vorzüge, das Mißliche, daß sie den Sitz des Alkaloids im Gewebe nicht lokal anzeigen, und in dieser Beziehung haben auch die allgemeinen Reagentien versagt (Clautriau IV, 55; Suzuki I).

Immerhin läßt sich sagen, daß die Kaffeebohne fast in allen Endospermzellen und die Kolanuß das meiste Alkaloid in den Parenchymzellen des Embryo führt.

Theobromin, $C_7H_8N_4O_2$.

Vorkommen.

In den Samen und jungen Blättern der Sterculiaceen Theobroma Cacao und Sterculia acuminata.

Eigenschaften. Theobromin ist Dimethylxanthin und kann leicht in Trimethylxanthin oder Kaffeïn überführt werden. Kleine, farblose Kriställchen des rhombischen Systems, meist rechtwinklige Täfelchen, die zwischen 290° bis 295° sublimieren. Leicht löslich in heißem Wasser, Kalilauge und Ammoniak, schwer löslich in kaltem Wasser und Alkohol, etwas leichter in Chloroform und Amylalkohol, unlöslich in Äther.

Mikrochemischer Nachweis. Fügt man zu einem Theobrominkriställchen ein Tröpfchen konzentrierter Salzsäure und nach einiger Zeit ein ebenso großes Tröpfchen Goldchlorid, so treten, sobald ein Teil der Flüssigkeit verdampft ist, am Rande des Tropfens überall lange gelbe Nadeln auf, zuerst einzeln, dann in divergierenden Büscheln, schließlich in fadenartigen oder strauchartigen Aggregaten.

ähnlich wie bei den entsprechenden Versuchen mit Kaffeïn. Ist die Theobrominlösung konzentriert, so entstehen sofort gelbe, strahlige und fadenartige Kristallaggregate. Ganz derselbe Versuch läßt sich anstatt mit reinem Theobromin mit Schnitten aus der Kakaobohne machen, auch hier erhält man gelbe Nadeln von demselben Aussehen und denselben Eigenschaften. Es handelt sich hier, wenigstens der Hauptmasse nach, um die Doppelverbindung des Alkaloids mit Salzsäure und Goldchlorid.

Die Reaktion gelingt auch mit der Samenschale, hier aber weniger deutlich, da das Theobromin in viel geringerer Menge vorhanden ist. Echte Kakaopräparate, auch wenn in kleinen Mengen vorhanden, geben prompt die Reaktion auf Theobromin. Ob es in den beiderlei Zellen des Embryos, den farblosen sowohl als in rotgefärbten vorkommt oder nur in den einen von beiden, läßt sich vorläufig nicht entscheiden, da das Theobromin nicht in der Zelle selbst als Goldsalz niedergeschlagen werden kann. Jedenfalls dürfte das Alkaloid in der Mehrzahl der Embryozellen seinen Sitz haben. Bekanntlich enthält die Kakaobohne auch etwas Kaffeïn. Bei der großen Ähnlichkeit der Kristalle der Goldsalze der beiden Alkaloide können aber Kaffeïn und Theobromin nebeneinander in der geschilderten Weise vorläufig nicht unterschieden werden.

16. Die Alkaloide der Senfsamen.

Der Same des weißen Senfs Sinapis alba L. enthält eine Reihe interessanter Körper: 1. das Alkaloid Sinapin, 2. das Glykosid Sinalbin, 3. das Ferment Myrosin, 4. die Erukasäure; der schwarze Senfsame, Brassica nigra Koch, enthält kein Sinalbin, wohl aber Sinapin.

Das Sinapin, $C_{16}H_{25}NO_6$, findet sich als Rhodansinapin oder Schwefelcyansinapin im Samen vor. Das letztere kristallisiert in glasglänzenden, sternförmig angeordneten oder zu Warzen gruppierten Prismen, die sich zumal in warmem Wasser und Weingeist mit gelber Farbe lösen und sich mit Ferrisalzen röten. Die Salze des Sinapins werden durch die geringsten Spuren eines Alkalis, schon durch Brunnenwasser oder Tabakrauch intensiv gelb und durch Salpetersäure vorübergehend dunkelrot. Kali-, Natronlauge, Kalkwasser und Barytwasser lösen den Körper fast momentan mit gelber Farbe auf. Diese Reaktion gelingt auch mit Schnitten durch den Samen. Sie ist sehr empfindlich. Schon der Zusatz von schwachem Barytwasser oder die Annäherung eines mit Ammoniak befeuchteten Glasstabes zu einem im Wassertropfen liegenden oder etwas benetzten Schnitt genügen zum Hervorrufen der Gelbfärbung. Die Probe gelingt am besten, wenn man den Schnitt in konzentrierte Kalilauge legt, er färbt sich momentan intensiv gelb und beim Erwärmen tieforange. Schwarzer Senf gibt mit Kalilauge zwar Gelb- aber nicht Orangefärbung. Die Gelbfärbung hat auch praktisches Interesse, da sich beispielsweise der zur Verfälschung des Senfpulvers verwendete Leinsamen mit Kali nicht färbt. Mit Schnitten, die längere Zeit ($^1/_2$ Stunde) im Wasser lagen, versagt die Reaktion völlig. Der Einwand, daß die Gelbfärbung möglicherweise auch von Gerbstoffen herrühren könnte, trifft nicht zu, da der Senfsame, abgesehen von einer Spur in der Samenschale, völlig gerbstoffrei ist. Hingegen muß zugestanden werden, daß die Färbung auch vom Glykosid Sinalbin her-

rühren kann und gewiß auch herrührt, weil sich dieses gegenüber Alkalien ebenso verhält wie das Sinapin. Es ist daher nicht möglich, zu sagen, ob beide Substanzen in ein und derselben Zelle oder in verschiedenen Teilen des Keimlings vorkommen. Nur das eine geht in Anbetracht der Tatsache, daß die Samenschale die Gelbfärbung mit Alkalien nicht annimmt, mit Sicherheit hervor, daß beide Substanzen nur im Embryo, nicht aber in der Samenschale liegen (Molisch I, 31).

17. Taxin, $C_{37}H_{52}NO_{10}$ (?).

Vorkommen.

In jungen Zweigen, in Blättern und Früchten des Eibenbaumes Taxus baccata.

Eigenschaften. Amorphes Pulver. Kaum löslich in Wasser, löslich in Alkohol, Aceton, Chloroform, Benzol und Äther. Sehr giftig. Schmeckt bitter. Taxin löst sich in konzentrierter Schwefelsäure mit purpurroter Farbe.

Mikrochemischer Nachweis. Russel (I) benutzte das mit etwas Wasser verdünnte Mandelinsche Reagenz (Schwefelsäure mit Ammoniumvanadat), das mit Taxin eine hellrote Färbung gibt. Schnitte durch junge Organe werden mit diesem Reagenz schwach rot, mittelalte orangerot und ältere fast ziegelrot.

Das Taxin ist in den Vegetationspunkten reichlich vorhanden, bei weiterer Entwicklung der Organe nimmt es wieder ab, dann wieder zu und erreicht in völlig ausgewachsenen Organen ein Maximum (Russel I).

Alkaloide von Narzissen und Orchideen.

Bei einer Reihe von Monokotylen haben Errera und seine Schüler es hauptsächlich auf Grund von allgemeinen Reagentien wahrscheinlich gemacht, daß Alkaloide vorkommen dürften. Es sind dies:

Clivia miniata Benth (Molle II).

Narcissus-Arten (Errera, Maistriau et Clautriau I).

Orchideae. Dendrobium nobile (Wildemann I).
Dendrobium Ainsworthii (Wildemann I).
Eria, Catasetum, Phalaenopsis (Droog I).

Droog hat 104 Arten der Orchideen, die 78 Gattungen angehören, mikrochemisch untersucht und bei 9 Arten Alkaloide festgestellt. Da aber diese Alkaloide fast nur mikrochemisch geprüft wurden und in reiner Form daher unbekannt sind, so begnüge ich mich mit dem Hinweis darauf, ohne auf das Mikrochemische einzugehen.

X. Eiweißkörper.

Die Eiweißstoffe bilden eine physiologisch wohl charakterisierte Gruppe, deren Glieder sich von den Kohlehydraten und Fetten wesentlich dadurch unterscheiden, daß sie neben C, O, H noch Stickstoff und Schwefel, manchmal auch Phosphor enthalten. Sie sind kolloidaler Natur. Durch verschiedene Mittel können sie ihres kolloidalen Charakters beraubt werden. Man nennt diesen Vorgang Denaturierung oder Koagulation. Er kann herbeigeführt werden durch gewisse Fällungsmittel, wie Alkohol, Aceton, Metallsalzlösungen (Eisenchlorid, Kupfersulfat,

Sublimat usw.), organische Säuren, starke Mineralsäuren usw. Gewöhnlich sind die Eiweißkörper amorph. Es gibt in der Pflanze aber auch kristallisierte Eiweißstoffe, und manche, die in der lebenden Zelle niemals kristallisiert auftreten, können durch Ammonsulfat, Magnesiumsulfat oder Kochsalz ausgesalzen und kristallisiert gewonnen werden, wie das Phykoerythrin und Phykocyan (vgl. p. 256 und 259). Die Eiweißkörper können als Kondensationsprodukte der Aminosäuren aufgefaßt und mit Rücksicht auf die Pflanze eingeteilt werden in

I. Eigentliche Eiweißstoffe (Proteïne).
   a) Albumine.
   b) Globuline und Nukleoalbumine.
   c) Gliadine.

II. Proteïde.
   a) Nukleoproteïde.
   b) Glukoproteïde.

Ferner gehören die Spaltprodukte der Eiweißkörper hierher: die Albumosen, Peptone und Nukleïnsäuren. Die Proteïde stellen Verbindungen von Proteïnen mit anderen hochmolekularen Substanzen (Nukleïnsäuren, Kohlehydraten usw.) dar und gehören zu den kompliziertesten Stoffen des Pflanzenreiches. Ihre Spaltungsprodukte sind oft sehr zahlreich und oft an und für sich schon sehr kompliziert. Da von keinem Eiweißkörper die Konstitution bekannt ist und nur Gruppenreaktionen auf Eiweiß zur Verfügung stehen, muß man sich, wenigstens mit Rücksicht auf die Pflanzenzelle, häufig mit der Feststellung der Tatsache begnügen, daß überhaupt ein Eiweißkörper vorliegt. Für den Botaniker ist diese Aufgabe, da das Eiweiß einen integrierenden Teil wohl jeder Zelle bildet, sehr wichtig, er kommt häufig in die Lage, Eiweiß nachweisen zu müssen, und dies bewerkstelligt er durch Heranziehung gewisser physikalischer Eigenschaften und die sogenannten Eiweißreaktionen, von denen die brauchbaren hier behandelt werden sollen.

Nachweis.

1. Xanthoproteïnsäurereaktion. Eiweißkörper färben sich besonders beim Erwärmen mit konzentrierter Salpetersäure dunkelgelb. Die Färbung geht bei Zusatz von Natronlauge im Überschuß in Rotbraun und bei Zusatz von verdünntem Ammoniak in Orange über. Die Reaktion beruht auf der Bildung von Nitroderivaten. Die Gelbfärbung der Haut oder des Fingernagels beim Betupfen mit Salpetersäure kommt durch diese Reaktion zustande. Die Färbung unterm Mikroskop ist oft eine schwache; auch ist zu beachten, daß manche organische Körper, die nicht der Eiweißgruppe angehören, mit Alkalien schon allein gelb gefärbt werden.

2. Die Raspailsche Reaktion wurde 1833 von Raspail (I) entdeckt. Wird Eiweiß mit konzentrierter Zuckerlösung und dann mit konzentrierter Schwefelsäure versetzt, so färbt es sich purpur, violettrot oder rot. Die Reaktion wird durch den aromatischen Kern des Eiweißes bedingt (Krasser I, 125). Raspail wußte auch schon, daß gewisse Fette und Harze (vgl. p. 118 u. 168) die Probe gleich-

falls geben. Man wird daher in der Deutung der Reaktion Vorsicht obwalten lassen müssen. In Pflanzengeweben tritt die Raspailsche Probe oft auf Zusatz von Schwefelsäure allein ein. Dies kommt daher, weil entweder Zucker schon vorhanden war oder aus anderen Kohlehydraten, wie Zellulose, Stärke, Glykosiden usw. durch die hydrolysierende Wirkung der Schwefelsäure entsteht. Ähnliche Färbungen rufen mit Schwefelsäure auch gewisse Glykoside (Salicin, Coniferin) und Alkaloide (Nikotin) hervor.

3. Millons Reaktion, Eiweiß nimmt mit Millons Reagens (vgl. p. 21) in der Kälte langsam, rascher bei schwachem Erwärmen eine ziegelrote Färbung an. Auch diese Reaktion ist nicht eindeutig, denn nach den Untersuchungen von Nasse (I), Krasser (I) und anderen geben auch verschiedene andere Körper (Tyrosin, Salicylsäure, Oxymandelsäure, Phenol, Thymol, Vanillin, Naphtol), also Körper mit einfach hydroxyliertem aromatischen Kern Rotfärbung. Trotzdem kann die Probe in Kombination mit anderen beim Eiweißnachweis gute Dienste leisten.

4. Die Reaktion mit alkalischem Kupfersulfat (Biuretreaktion). Eiweiß gibt mit Kupfersulfatlösung und Kali- oder Natronlauge behandelt eine meist violette Färbung, ähnlich wie Biuret, daher der Name. Peptone färben sich unter denselben Bedingungen ähnlich oder blaß rosa oder purpurrot. Gewisse Kohlehydrate und einige nicht aromatische Säuren liefern auch blaue Lösungen, man darf daher vermuten, daß die Reaktion von dem nicht aromatischen Kern des Eiweißes veranlaßt wird. Die Reaktion wird zweckmäßig in der Weise ausgeführt, daß man die Schnitte zunächst für kurze Zeit in eine konzentrierte wässerige Kupfersulfatlösung einlegt, in Wasser rasch hin und herschwenkt und dann in Kalilauge (1 T. Kalihydrat und 1 T. Wasser) überträgt. Die Reaktion versagt oft, wenn wenig Eiweiß vorhanden ist. Wenn man z. B. völlig ausgebildete Parenchymzellen der Probe unterwirft, so erhält man gewöhnlich negative Resultate, hingegen geben Loew und Bokorny (I, 58) an, daß man auch bei ausgewachsenen Zellen (Markstrahlen von Pinus) eine sehr schöne Rosafärbung erhält, wenn man die Präparate zuerst in Kalilauge von 1,33 spez. Gew. etwa 5 Minuten liegen läßt, die anhängende Lauge mit Fließpapier entfernt und dann mit einer ½proz. Kupfervitriollösung behandelt.

5. Aldehydreaktionen. Reichl (I) hat einige gute Farbenreaktionen aufgefunden, die gewisse Eiweißkörper mit verschiedenen Aldehyden geben und hat mit Mikosch diese Reaktionen auf ihre Verwendbarkeit in der botanischen Mikrochemie geprüft (Reichl und Mikosch I). Brauchbar erwiesen sich die Proben mit Salicylaldehyd, Anisaldehyd, Vanillin und Zimtaldehyd. Die Präparate werden 24 Stunden in der betreffenden ½ bis 1proz. Aldehydlösung belassen und dann auf dem Objektträger in einem Tropfen mäßig verdünnter Schwefelsäure (1 : 1), der einige Tropfen Ferrisulfatlösung beigefügt wurde, getaucht. Eiweißkörper färben sich entweder sofort oder nach einer Stunde und darüber mit Salicylaldehyd violett bis blau, mit Anisaldehyd violettrot bis blauviolett, mit Vanillin violett bis veilchenblau und mit Zimtaldehyd rot, violett, dunkelblau oder rotgelb. Erwärmen beschleunigt die Reaktion. Es werden nicht alle Eiweißkörper

angezeigt, vorwiegend die, die den aromatischen Atomkomplex Skatol enthalten. „Längsschnitte aus Stamm und Wurzel von 12 Tage alten Keimpflanzen von Zea Mais, Phaseolus vulg., Pisum sat., Helianthus annuus, Cucurbita Pepo, Abies exc., Schnitte durch Kartoffelparenchym, durch ruhende Kotylen von Phaseolus und ruhende Samen von Zea Mais färben sich nach vorher beschriebener Behandlung mit Salicylaldehyd anfangs schwach rot, nach längerer Einwirkung (6 Stunden) hingegen dunkelviolett; mit Anisaldehyd weinrot, nach längerer Einwirkung der Säure intensiver; mit Vanillin anfangs rot, später aber tiefblau; mit Zimtaldehyd orangerot, das nach einiger Zeit ins Gelb übergeht." Die Färbungen lassen sich auch noch bei stärkeren Vergrößerungen (800 bis 900) beobachten.

6. Färbung durch Berlinerblau. Wenn man nach Hartig (I) Schnitte zuerst in eine verdünnte Lösung von gelbem Blutlaugensalz taucht, sorgfältig abwäscht und dann in eine Lösung von Eisenchlorid einlegt, so werden die Kerne tiefblau. Zacharias (I, 211) hat diese Färbungsmethode etwas modifiziert und neuerdings zum mikrochemischen Nachweis von Eiweiß verwertet. Er verwendet ein Gemisch, bestehend aus 1 Vol. einer wässerigen 10proz. Lösung von gelbem Blutlaugensalz, 1 Vol. Wasser und 1 Vol. Essigsäure (spez. Gewicht 1,063). In dieses leicht zersetzliche Gemenge, das immer frisch bereitet werden muß, werden die Schnitte für 1 Stunde gebracht, dann in 60proz. Alkohol so lange gewaschen als die Waschflüssigkeit noch sauer reagiert oder sich mit Eisenchlorid blau färbt. Setzt man dann verdünnte Eisenchloridlösung hinzu, so nehmen die Eiweißstoffe, die mit Blutlaugensalz eine nicht auswaschbare Verbindung eingehen, infolge der nun eintretenden Berlinerblaubildung eine intensiv blaue Farbe an. Die Reaktion hat für die makroskopische Erkennung der Eiweißstoffe keine Bedeutung, für die mikrochemische Analyse kann sie aber namentlich in Kombination mit anderen Proben wichtig sein, so namentlich für die Differenzierung und Unterscheidung gewisser eiweißhaltiger Inhaltskörper (Leukoplasten, Chlorophyllkörner, Nukleoli).

7. Verdauung durch Fermente. Bekanntlich werden durch Pepsin und Pankreatin gewisse Eiweißkörper in lösliche Verbindungen, in Peptone übergeführt, d. h. verdaut. Von dieser Eigenschaft hat man in der Mikrochemie ebenfalls Gebrauch gemacht. Unter den Botanikern war es namentlich Zacharias (I, II, III, IV, V), der sich mit der Einwirkung der Verdauungsfermente auf den Zellkern und das Cytoplasma abgegeben hat. Die Verdauung wird nach Zimmermann (I, 129) so durchgeführt, daß man die zu untersuchenden Objekte für einige Stunden in ein Gemisch von 1 Teil käuflichem Pepsin-Glyzerin und 3 Teilen Wasser, das mit 0,2proz. gewöhnlicher, chemisch reiner Salzsäure angesäuert ist, einlegt und auf einer Temperatur von etwa 40° C erhält. Das Pankreatinglyzerin wird ebenso benutzt, soll aber vorher mit dem dreifachen Volumen Wasser verdünnt werden[1]). Wie die Salzsäure allein wirkt, kann durch Kontrollversuche festgestellt werden. Die Objekte können frisch oder als Alkoholmaterial unter-

1) Beide Fermente können in haltbarer Form bei Dr. G. Grübler in Leipzig, Zentralstelle für mikroskopisch-chemischen Bedarf, bezogen werden.

sucht werden; die besten Bilder erhält man, wenn man Pflanzenobjekte verwendet, die nur 24 Stunden in Alkohol lagen.

Während die eigentlichen Eiweißstoffe durch die Pepsinsalzsäure zum Verschwinden gebracht werden, werden die Nukleïne in Übereinstimmung mit makrochemischen Befunden wenig oder gar nicht angegriffen. Die Nukleïne unterscheiden sich von den anderen Eiweißstoffen außerdem durch ihren Phosphorgehalt, sind fast unlöslich in Wasser, unlöslich in verdünnten Mineralsäuren, leicht löslich in selbst sehr verdünnten kaustischen Alkalien, Ammoniak, konzentrierter Salpeter- und rauchender Salzsäure. Sie sind in frisch gefälltem Zustande löslich in Soda und phosphorsaurem Natron. Auf Grund dieser Eigenschaften konnte ZACHARIAS (II) auf mikrochemischen Wege an den Kernen von Tradescantia viriginica, Ranunculus Lingua u. a. zeigen, daß die Kerne und innerhalb dieser besonders das Chromatin der Hauptmasse nach aus Nukleïn bestehen. Auch die Kernplattenelemente setzen sich aus dieser Substanz zusammen, hingegen nicht die Spindelfasern des sich teilenden Kernes (ZACHARIAS II, 175). Abgesehen von den Kernen bleibt in Pepsin auch sonst ein großer Teil des Protoplasmas ungelöst. Diese sich nicht lösenden Stoffe zeigen von Nukleïn abweichende Reaktionen und werden von ZACHARIAS als Plastin zusammengefaßt. Außer den erwähnten Substanzen enthalten Zellkern und Plasma noch in Pepsin lösliches Eiweiß. Besonders reich daran sind die Nukleolen oder Kernkörperchen (ZACHARIAS IV, 306). Man versteht darunter meist kugelige Gebilde, die in der Zahl 1—3 oder in noch größerer im Kerne vorkommen, aus gallertigem Eiweiß, wahrscheinlich aus Nukleoproteïden (MEYER II) bestehen und als Reservestoff dienen.

Mit dem mikrochemischen Nachweis verschiedener Eiweißkörper in der Zelle hat sich auch SCHWARZ (I) befaßt; er glaubt darin acht verschiedene Eiweißkörper nachgewiesen zu haben. Da aber diese Stoffe heute nicht chemisch definierbar sind und auch makrochemisch bisher nicht untersucht werden konnten, so soll hier nicht weiter darauf eingegangen werden. Von anderen sogenannten Eiweißreaktionen — vgl. die Übersicht bei WÈVRE (I) — mögen hier noch die mit Alloxan (KRASSER I, 135; KLEBS I), mit Salzsäure, mit Chinonen (RACIBORSKI I) und die mit molybdänsäurehaltiger Schwefelsäure erwähnt sein. Von einem speziellen Eingehen auf diese Proben darf hier abgesehen werden, da sie mit zu vielen anderen Stoffen dieselben Färbungen geben wie mit Eiweiß. Es sei nochmals betont, daß es derzeit überhaupt kein eindeutiges Eiweißreagens gibt und daß man daher beim mikrochemischen Nachweis immer mehrere Proben miteinander kombinieren und überdies die Quellbarkeit, Färbbarkeit durch Jod und durch Anilinfarbstoffe, Aussalzung und andere physikalische Eigenschaften mit in Betracht ziehen muß, um einen möglichst sicheren Schluß zu ziehen.

Ausführliches über den makro- und mikrochemischen Nachweis des Eiweißes findet man bei MEYER (II, 481).

Daß die geschilderten Eiweißreaktionen auch dazu herangezogen werden können, um den Gehalt und die Verteilung des Eiweißes in ganzen Organen makroskopisch zu demonstrieren, hat jüngst MOLISCH (IV) gezeigt.

Über das Vorkommen von Eiweiß in der Zelle und im Gewebe, im besonderen über spezielle interessante Vorkommnisse von Eiweiß soll in einem folgenden Kapitel berichtet werden.

XI. Fermente.

Die Pflanze und das Tier erzeugen verschiedene Stoffe von unbekannter Zusammensetzung und Konstitution, die durch ihre Anwesenheit langsam verlaufende Reaktionen beschleunigen. Sie wirken alle katalytisch. Solche Körper werden ungeformte Fermente oder Enzyme genannt. Ihre Kenntnis nimmt von Tag zu Tag so zu, daß man ohne Übertreibung sagen kann, daß ein großer Teil des Stoffwechsels der Lebewesen mit den Leistungen der Fermente zusammenhängt. Ich erinnere nur an die Diastase, die proteolytischen und zahlreiche andere hydrolysierende Enzyme, ferner an die Gärungsfermente, die Oxydasen, Katalasen u. a.

Mit Rücksicht auf die große Wichtigkeit der Fermente im Getriebe des Stoffwechsels und im Leben der Organismen überhaupt hätte es selbstverständlich eine große Bedeutung, wenn wir über den Sitz des Enzyms in der Zelle Genaueres wüßten, und wenn wir Mittel hätten, Fermente in den Zellen, Geweben und Organen an Ort und Stelle nachzuweisen. Leider muß gesagt werden, daß wir von diesem Ziele noch weit entfernt sind, ja eigentlich noch fast ganz am Anfange stehen, da wir sichere, eindeutige mikrochemische Reaktionen auf Enzyme nicht kennen. Das Wenige, was bis heute über die Mikrochemie der Enzyme bekannt geworden ist, soll im folgenden der Hauptsache nach zusammengestellt werden.

1. Die Diastase.

Man versteht darunter eine Gruppe von Fermenten, die die Fähigkeit besitzen, aus der Stärke durch einen hydrolytischen Prozeß Dextrine und Maltose zu bilden.

Mikrochemie. Ein sicheres Reagens auf Diastase kennt man vorläufig nicht. Doch läßt sich die Einwirkung der Diastase auf die Stärkekörner, die sich in eigenartigen Korrosionserscheinungen kundgibt, mikroskopisch leicht feststellen. Untersucht man die Stärkekörner eines keimenden Weizenkorns, so bemerkt man häufig im Profil mehr oder weniger keil- oder kegelförmig erscheinende Porenkanäle, die im Gegensatz zu den intakten Partien eine deutliche Schichtung aufweisen und auf der Flächenansicht wie Membrantüpfel aussehen. Später dringen die Porenkanäle immer mehr vor, verzweigen sich und treten auch in Verbindung, so daß das Stärkekorn wie von einem Kanalnetz durchsetzt erscheint und schließlich zum Zerfall gebracht wird.

Nach Krabbe (I, 528) und Grüss (I) nehmen die Porenkanäle ihren Anfang von außen, im Innern bilden sich Kanäle nur als sekundäre Abzweigung von älteren, die von außen entstanden. Die Diastase wirkt, da sie nicht in die intermicellaren Räume einzudringen vermag, nicht auslaugend, sondern die Porenkanäle entstehen dadurch, daß die Stärkesubstanz an bestimmten Punkten allmählich, gleichsam Molekül für Molekül, weggenommen wird (Krabbe 528). Dagegen ist Meyer (I, 228) der Ansicht, daß die Diastase auch in das Korn einzudringen und im Innern Porenräume zu schaffen vermag.

Bekanntlich kommt auch im menschlichen Speichel ein diastatisches Ferment vor, das auf Stärke rasch abbauend einwirkt. Von großem Interesse für die Fermentforschung ist die Entdeckung Biedermanns (I), derzufolge nicht bloß der Speichel sondern auch die Asche des Speichels auf Stärkekleister bzw. reine Amylose-lösungen diastatisch wirkt. Da Biedermann zeigen konnte, daß reine Lösungen von Chloriden der Alkali- und Erdmetalle ähnlich wie Diastase Stärke abbauen, so wird es wohl wahrscheinlich, daß derartige Salze in der Speichelasche die diastatische Wirkung veranlassen. Er meint, daß unter Mitwirkung bestimmter Ionen aus der Amylose eine fermentativ wirkende Substanz entsteht, die nach Michaelis als eine Verbindung eines Amylosebestandteils mit den Ionen aufzufassen wäre (I. 25).

2. Oxydasen.

Ungemein verbreitet im Pflanzen- und Tierreiche sind gewisse Fermente, die oxydable Substanzen in Gegenwart von molekularem Sauerstoff oder anderen Sauerstoffquellen (Peroxyde) oxydieren und daher den Namen Oxydasen erhalten haben. Hierher gehört z. B. die Lakkase, ein Ferment, das bei der Bildung des tiefschwarzen Lackes aus dem Milchsaft des Lackbaumes Rhus vernicifera eine wichtige Rolle spielt, ferner die Tyrosinase, die eine spezifische Wirkung auf das Tyrosin ausübt u. a.

Die Wirkungsweise der Oxydasen im Organismus ist noch wenig bekannt, doch ist man geneigt, ihnen bei den Oxydationsvorgängen im Tier und in der Pflanze, insbesondere bei den Atmungsvorgängen, eine wichtige Leistung zuzuschreiben (Palladin I).

Bach und Chodat (I) sehen in den Oxydasen keinen einheitlichen Körper, sondern halten sie für zusammengesetzt 1. aus Peroxydasen, d. h. aus oxydierenden Fermenten, die nur in Gegenwart organischer oder anorganischer Peroxyde wirken und das Oxydationsvermögen dieser katalytisch beschleunigen, und 2. aus den Oxygenasen, leicht oxydablen Substanzen, die den molekularen Sauerstoff unter Peroxydbildung aufnehmen und dann durch die Peroxydase aktiviert werden.

Der mikrochemische Nachweis.

1. Guajak-Wasserstoffsuperoxyd. Man nimmt zwei Glasdosen, die eine wird mit einer frisch bereiteten Lösung einer mäßig verdünnten Lösung von Guajakharz in absolutem Alkohol, die andere mit Wasserstoffsuperoxydlösung beschickt. Legt man Schnitte durch frische Pflanzenteile für mehrere Minuten in die Guajaklösung und dann in die Wasserstoffperoxydlösung, so färben sie sich in dieser sofort oder nach einer Minute mehr oder minder blau, falls Oxydasen im Schnitte vorhanden sind. Es kann vorkommen, daß eine Bläuung schon in der Guajaklösung eintritt, immer aber wird die Bläuung in der Wasserstoffsuperoxydlösung verstärkt. Die Schnitte werden hier oft tintenblau. Es ist leicht zu beobachten, daß die bläuenden Körper oft recht scharf lokalisiert sind. Ein frischer Schnitt durch das Hypokotyl von Helianthus annuus wird in der Guajaklösung rasch in der Epidermis, der subepidermalen Schicht und im Gefäßbündelring blau. Beim Eintauchen in die H_2O_2-Lösung wird die Bläuung intensiv und verbreitet sich schließlich über den ganzen Querschnitt. Viele Details

über die Lokalisation und das Auftreten der Bläuung findet man in den Arbeiten von Grüss (I—III).

Daß Pflanzensäfte sich mit Guajak und Wasserstoffperoxyd bläuen, war bereits Schönbein bekannt. Man hat diese in Pflanzengeweben eintretende Bläuung häufig als Diastasereaktion hingestellt (Lintner I, Grüss I). Obwohl ich nicht daran zweifle, daß die Bläuung in vielen Fällen von Diastase herrühren dürfte, muß man sich doch hüten, diesen Schluß auf die erwähnte Reaktion allein zu stützen, da ja auch andere Körper die Bläuung geben. Pawlewski (I, 1313), der die Unsicherheit dieser Reaktion als Diastasereaktion erkannt und kritisiert hat, machte darauf aufmerksam, daß, abgesehen von Pepton, Gelatine und Eiweiß, auch Nitrite, Ozon, Chlor, Brom, Jod, Chromsäure, Kaliumpermanganat und Ferricyankalium mit Guajak Blaufärbung geben, so daß die angeführte Reaktion in der Anwendung auf Diastase an Wert bedeutend verliert. Die angeführten mineralischen Substanzen dürften in der Pflanze wohl niemals oder höchst selten die Bläuung hervorrufen, weil sie darin nicht oder selten vorkommen. Nach diesem Sachverhalt möchte ich schließen, daß die eintretende Bläuung mit Guajak und H_2O_2 stets auf einen oxydierenden Körper und in den meisten Fällen auf Oxydasen deutet.

2. Ein vortreffliches Reagens zum Nachweis minimaler Mengen aktiven Sauerstoffs machte Wurster (I) bekannt, das auch dem Botaniker Dienste leisten kann (Molisch III, 231). Es ist ein Reagenzpapier, das mit Tetramethylparaphenylendiamin getränkt ist. Das im Handel unter dem Namen „Wursters Papier“ oder „Tetrapapier“ erhältliche Reagens färbt sich im Kontakt mit aktivem Sauerstoff sofort blau, um sich bei weiterer Oxydation wieder zu entfärben.

Legt man ein solches Papier so zwischen die beiden Hälften einer eben aufgeschnittenen Kartoffelknolle, daß das eine Ende tief im Innern liegt, das andere aber über die Schale hervorragt, so entsteht bei Druck genau da, wo das Korkkambium liegt, also knapp unter der braunen Schale, ein tiefblauer Streifen, während sich das Innenparenchym erst viel später färbt. Wursters Papier gibt, wenn man die frische Schnittfläche eines Keimstengels von Helianthus annuus sanft auf das Papier aufdrückt, ein anatomisches Bild; Epidermis und Gefäßbündelring erscheinen als blaue Ringe, während Mark und innere Rinde sich auffallend weniger färben. Ähnliche Versuche, mit Keimstengeln von Phaseolus multiflorus, Vicia sativa, Cucurbita Pepo und Zea Mais durchgeführt, ergaben, daß die genannten Pflanzen Wursters Papier viel weniger bläuen als Helianthus, aber Guajak-Wasserstoffperoxyd durchwegs bläuen. Man wird wohl mit der Annahme nicht fehlgehen, daß die Bläuung des Tetrapapiers in vielen Fällen von den im Pflanzenreiche so verbreiteten Oxydasen herrührt, obwohl aus der Reaktion, streng genommen, nur auf aktivierten Sauerstoff geschlossen werden darf.

3. Indophenolprobe. Die von Röhrmann und Spitzer (I) eingeführte Reaktion wurde zum Nachweis von Oxydasen empfohlen. Man verwendet eine frisch bereitete verdünnte Lösung von 1 Äquiv. α-Naphthol, 1 Äquiv. p-Phenylendiamin und 3 Äquiv. Soda. Diese färbt sich an der Luft langsam, bei Gegenwart von Oxydasen sehr rasch blau. Die dabei entstehenden Farbstoffe gehören der Reihe der Indamine und Eurhodine an. Nach Czapeks (I, 469) Erfahrungen ge-

lingt diese Reaktion sehr allgemein mit pflanzlichen Geweben. Er betont aber, daß nach Pohl (I) auch nicht enzymatische Körper, wie Amygdalin und gewisse Stoffe des Tannennadelextraktes die Reaktion geben, weshalb man auch in der Indophenolprobe ein sicheres Reagens auf Oxydasen nicht erblicken darf.

4. Leptomin. Im Anschluß daran sei hier auf die Untersuchungen Raciborskis (I, II, III) hingewiesen, der gezeigt hat, daß „die Leitungsbahnen aller höheren Pflanzen, also die Siebröhren und die Milchröhren, einen katalytisch wirksamen Körper führen, welcher die Fähigkeit besitzt, den an Wasserstoffsuperoxyd leicht gebundenen Sauerstoff auf andere Körper zu übertragen" (II, 362). Er nennt diesen Körper Leptomin. Guajaklösung, die etwas H_2O_2 enthält, wird durch Leptomin gebläut. Dieses ist in Wasser und Glyzerin löslich, in Alkohol unlöslich, stellt in trockenem Zustande ein amorphes weißes Pulver dar und wird in Lösung bei 95° C in kurzer Zeit zerstört.

Raciborski hat ferner gezeigt, daß der Milchsaft der meisten Gefäßpflanzen, z. B. von Euphorbia, infolge seines Leptomingehaltes mit einer geringen Menge einer alkoholischen Lösung, bestehend aus gleichen Teilen α-Naphthol und Dimethylparaphenylendiamin und etwas H_2O_2 sich dunkelindigo bis schwarzblau färbt. Um das Leptomin in den Sieb- und Milchröhren mikroskopisch nachzuweisen, verwendet Raciborski Alkoholmaterial, da durch den Einfluß des Alkohols gewisse Oxydationsfermente, die namentlich außerhalb der Leitungsbahnen ihren Sitz haben, zerstört werden, wodurch das Leptomin nun besser in Erscheinung tritt. Das Leptomin wird durch den Alkohol an Ort und Stelle gefällt und kann dann am besten mit α-Naphthol und etwas H_2O_2 behandelt werden, wobei das Leptomin eine dunkelviolette Färbung annimmt. Die Milchröhren- und Siebröhrenstränge treten dann ungemein deutlich hervor. Für mikroskopische Zwecke erhielt ich (Molisch II, 64) ausgezeichnete Resultate mit einer verdünnten alkoholischen α-Naphtholösung allein, d. h. ohne Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd. Ich verwende dazu eine 15proz. alkoholische α-Naphthollösung, die mit Wasser soweit verdünnt wird, daß das α-Naphthol auszufallen beginnt. Dann füge ich so viel Alkohol hinzu, bis das ausgefallene α-Naphthol sich wieder gelöst hat. Die Reaktion läßt dann zwar länger auf sich warten, sie tritt jedoch viel intensiver auf und währt viel länger. Ich belasse die Schnitte in der Naphthollösung gewöhnlich 3 bis 12 Stunden, länger aber nicht, da dann die Reaktion häufig wieder verblaßt.

Ich habe die interessanten Angaben Raciborskis in verschiedenen Pflanzen unserer heimischen Flora nachgeprüft (Molisch II, 64) und kann die Richtigkeit derselben bestätigen, jedoch mit der Einschränkung, daß die Reaktion sehr häufig auch mit Elementen eintritt, die mit Leptom und den Milchröhren nichts zu tun haben, so daß von einer Beschränkung des Sauerstoffüberträgers auf Leptom und Milchsaft nur selten die Rede sein kann. Zwar erwähnt der Genannte selbst, daß auch viele Parenchymzellen die Reaktion geben können, ja daß bei Coleus fast der ganze Querschnitt reagiert, allein das Vorkommen des Leptomins außerhalb des Leptoms und der Milchröhren ist gewiß viel häufiger, als es nach den Untersuchungen Raciborskis zu sein scheint, denn ich konnte in vielen Fällen bei verschiedenen Pflanzenarten in den Bast-, Kollenchym-, Phellogen- und Epidermiszellen Lepto-

min nachweisen. Diejenigen Elemente, die mit Guajak-Wasserstoffsuperoxyd reagieren, geben auch die Reaktion mit α-Naphthol, ich möchte dieser letzteren Reaktion sogar den Vorzug geben, weil sie viel prägnanter ist. Bei der Guajakreaktion tritt die Blaufärbung nicht bloß in den Elementen selbst auf, sondern auch in ihrer Umgebung, so daß oft schwer zu entscheiden ist, welche Blaufärbung primär und welche sekundär auftritt. Bei Anwendung von α-Naphthol hingegen ist die Reaktion streng lokalisiert; sie tritt nur da auf, wo der oxydierende Körper seinen Sitz hat. Wie scharf die Lokalisierung ausgeprägt ist, geht schon daraus hervor, daß z. B. bei den Epidermiszellen junger einjähriger Oleanderstengel sich die inneren Wände allseitig violett färben, aber nicht die Außenwand. Man kann ferner beobachten, daß der Inhalt vieler Parenchymzellen ungefärbt bleibt, während ihre Wände starke Violettfärbung annehmen. Dasselbe gilt von den Bastzellen und den Leptomzellen bei Nerium. Wenn sich Inhalt und Wand bläuen, so ist schwer zu sagen, ob der oxydierende Körper beiden primär angehört oder ob dieser erst postmortal dem Inhalt entzogen und von der Wand gespeichert wird. Bedenkt man jedoch, daß sehr häufig die Wand sehr intensive Reaktion zeigt, der Inhalt aber keine, so wird wahrscheinlich, daß die oxydierende Substanz auch in diesen Fällen schon von vornherein in der Zellhaut ihren Sitz hatte.

Raciborski hat aus seinen Untersuchungen auf eine respiratorische, dem Hämoglobin ähnliche Leistung des Leptomins geschlossen, die aber, solange wir nicht mehr über das Leptomin wissen, nicht anerkannt werden kann (Molisch II, 67). Wir müssen uns vielmehr bescheiden, derzeit in dem Leptomin einen oxydierenden Körper zu erblicken.

3. Cytase.

Es ist schon lange bekannt, daß das Endosperm vieler Pflanzen sich aus Zellen zusammensetzt, deren Wände aus Reservezellulose bestehen. Diese wird während des Keimprozesses ganz oder zum Teil aufgelöst und als Baustoff gleich der Stärke verwendet. Die Auflösung erfolgt durch Fermente, die imstande sind, Zellulose, namentlich Hemizellulosen, zu lösen und als Cytase bezeichnet werden.

Wiesner (I) hat bereits die Aufmerksamkeit auf die enzymatische Wirkung der Gummiarten gelenkt, indem er zeigte, daß in den Gummiarten ein Ferment vorhanden ist, welches den Stärkekleister löst, zum Verschwinden bringt, aber nicht in reduzierenden Zucker, sondern wahrscheinlich in Dextrin umwandelt. Über diese Behauptung ist später viel diskutiert worden — ich verweise namentlich auf die Arbeiten von Reinitzer (I—III), Grafe (I, II) und Tschirch (I) — und wenn es Wiesner auch nicht gelang, zu beweisen, daß die Gummibildung durch ein Ferment besorgt wird, so hat er jedenfalls darin Recht behalten, daß die Gummiarten häufig enzymatische Eigenschaften oxydatischer und diastatischer Natur besitzen. Es liegt nicht im Rahmen dieses Werkes, auf die physiologisch so wichtige Frage der Gummientstehung einzugehen, ich möchte nur darauf hinweisen, daß es in Übereinstimmung mit den Ideen Wiesners Grüss (IV) gelang, die Wirkung der Gummi-Cytase auf Hemizellulosen in folgender Weise sichtbar zu machen.

Nachweis der Cytase.

Einige Tropfen einer Kirschgummilösung werden auf einem Deckgläschen von 3,5 qcm ausgebreitet und darin Schnitte durch die Kotyledonen der Lupine (L. hirsutus), deren Verdickungsschichten aus Galaktan bestehen, eingebettet. Um die Bakterienentwicklung zu hindern, wird zu den Schnitten etwas Thymolpulver gegeben. Hierauf kittet man das so zubereitete Deckgläschen mit Paraffin auf einen hohlen Holzklotz, dessen Höhlung etwas Wasser mit Toluol oder Thymol als Antiseptikum birgt. Bei Gegenwart von Cytase kann man, besonders wenn man von Zeit zu Zeit die Schnitte verschiebt, schon nach einigen Tagen an den sekundären Verdickungsschichten der Zellwände charakteristische Veränderungen und Lösungen wahrnehmen. Es tritt zuerst

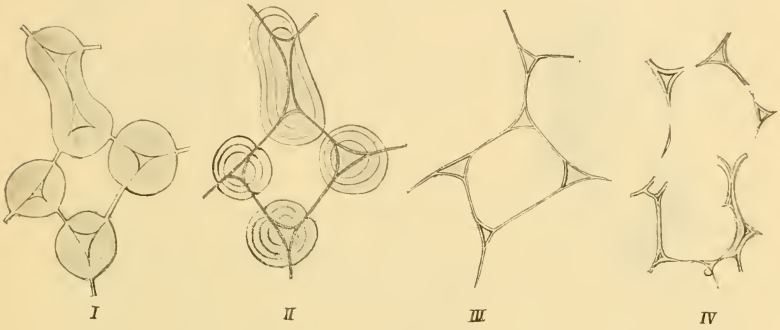


Fig. 101.

Wirkung der Cytase auf die Zellwände aus dem Kotyledo der Lupine (L. hirsutus).

I. Zelle mit Wandverdickungen.
II. Dieselbe Zelle nach 4tägiger Einbettung in Kirschgummilösung.
III. Dieselbe Zelle nach 16tägiger Einbettung in Kirschgummilösung.
IV. Dieselben Zellen, bei denen sogar die primäre Membran in Kirschgummi aufgelöst wurde. Nach Grüss (IV).

eine Lamellierung und dann ein Zerfließen der sekundären Schichten ein, so daß schließlich nur die primären Membranen als zierliches Netzwerk übrig bleiben (Fig. 101). Die Cytase läßt sich nicht immer in dieser Weise feststellen; unter acht Proben war die Hälfte ohne cytatische Wirkung. Am besten wirken die farblosen, eben aus dem Baume geflossenen Gummimassen (Grüss IV, 395).

4. Myrosin.

Heinricher (II) hat in einer gründlichen Arbeit den Beweis erbracht, daß fast alle Cruciferen durch ein bestimmtes histologisches Element charakterisiert sind, das sich unter anderem dadurch auszeichnet, daß sein Inhalt neben anderen Eiweißreaktionen in prägnanter Weise die Millonsche Reaktion zeigt. Er hielt den Inhalt für Eiweiß und bezeichnete diese Elemente als „Eiweißschläuche". Guignard (I) blieb es vorbehalten, ihre wahre Natur als „Myrosinzellen" zu erkennen.

Diese kommen häufig in den Pflanzen gleichzeitig, aber räumlich getrennt, mit Sinigrin und anderen Senfölglykosiden (vgl. p. 186) vor und es ist bereits erörtert worden, daß das Myrosin das Sinigrin in Zucker, Senföl und Kaliumbisulfat zu spalten vermag. Daß es sich in den Idioblasten tatsächlich um Myrosin handelt, beweist Guignard in folgender Weise. Der Stengel von Cheiranthus enthält weder Sinigrin noch eine analoge Verbindung, er führt aber in einer isolierbaren Schicht, und zwar in der inneren unverholzten Gefäßbündelscheide, Myrosin. Wenn man diese Schicht ablöst und in eine wässerige Lösung von myronsaurem Kali bringt, so wird dieses gespalten, und Senföl entsteht. Wird derselbe Versuch mit einem Gewebe ohne Myrosinzellen (Blatt oder Rinde von Cheiranthus) gemacht, so entsteht kein Senföl.

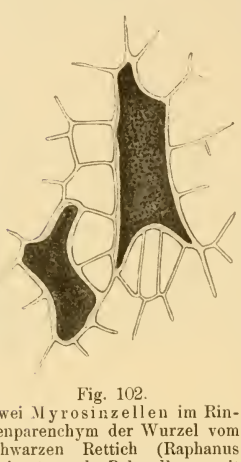


Fig. 102.
Zwei Myrosinzellen im Rindenparenchym der Wurzel vom schwarzen Rettich (Raphanus sativus) nach Behandlung mit Millons Reagens.
Vergr. 120.

Die Myrosinzellen (Fig. 102) zeigen, wie schon Heinricher dargetan hat, nicht nur die Millonsche, sondern auch andere Eiweißreaktionen. Konzentrierte Salzsäure und darauffolgender Zusatz von Kalilauge hebt die Myrosinzellen durch orangerote Färbung hervor. Nach Guignard werden sie beim Erwärmen fast bis zur Siedehitze in reiner Salzsäure, der auf 1 ccm der Säure ein Tropfen einer wässerigen Lösung von Orcin (1 : 10) beigemengt wurde, violett gefärbt. Nach Spatzier (I, 60) ist die Violettfärbung sehr schwach, sie wird aber deutlicher, wenn man statt Orcin Orceïn (1 : 10) verwendet. Eine verdünnte Lösung von p-Diazobenzolsulfosäure, frisch bereitet durch Eingießen eines Gemisches von sulfanilsaurem Natron und Kaliumnitrit in verdünnte Schwefelsäure, ruft in den Myrosinzellen eine gelbe Färbung hervor (Spatzier I).

Peche (II) versuchte Myrosin in der Wurzel von Raphanus sativus, im weißen und besonders im schwarzen Rettich, in der Weise nachzuweisen, daß er Schnitte durch die Rinde in eine 10proz. Kaliummyronatlösung einlegte, in der man bis zur Sättigung Baryum-, Strontium- oder Kalziumchlorid aufgelöst hat. Bei Verwendung von Baryumchlorid bedeckt sich der Inhalt einzelner, aber nicht aller „Eiweißschläuche" mit weißen Kügelchen, die wahrscheinlich aus Baryumsulfat bestehen. Die Erscheinung erklärt sich in der Weise, daß das Myrosin der betreffenden Zellen das Myronat spaltet und das hierbei auftretende Kaliumbisulfat mit Baryumchlorid den Niederschlag gibt und das Ferment dadurch anzeigt.

Derselbe Autor war auch bestrebt, die Lokalisation des Sinigrins in der Rettichwurzel zu eruieren, doch konnte dies nicht mit Sicherheit erreicht werden. Da er aber fand, daß sich sehr viele Zellen, besonders die in der Nähe der Gefäße mit alkohol.-ammoniakal. Silbernitratlösung schwarz, braun bis gelb, mit 1proz. Osmiumsäure schwarz und mit Soda-Kaliumpermanganatlösung gelbbraun färben, so hält er es für wahrscheinlich, daß alle diese Reaktionen sich auf Sinigrin beziehen dürften.

Die Myrosinzellen enthalten in den vegetativen Organen das Myrosin in gelöster Form, hingegen sieht man in den Samen der Cruciferen, wenn man Schnitte derselben in Mandelöl unterm Mikroskop beobachtet, das Myrosin in der Form von stark lichtbrechenden, farblosen und vollkommen homogenen Körnern. Spatzier, der sie zuerst beobachtet hat, nennt sie, weil sie die Reaktion des Myrosins zeigen, Myrosinkörner.

Die Myrosinidioblasten führen Plasma, einen Kern und in dem assimilierenden Mesophyll von Organen mancher Cruciferen können nach den Beobachtungen Schweidlers (I) sogar Chlorophyllkörner vorkommen.

Verbreitung. Nach Guignard (II, III, IV) kommt das Myrosin, abgesehen von den Cruciferen, auch bei den Capparideen, Resedaceen, Tropaeolaceen und Limnanthaceen lokalisiert vor. Auch Carica Papaya und Moringa sollen Myrosin führen. Die Angabe Spatziers, daß Myrosin auch im Samen von Viola vorkomme, beruht nach Guignard auf einem Irrtum. Bei den Resedaceen ist das Myrosin nach Guignard und Spatzier in den vegetativen Organen ausschließlich in den Schließzellen der Spaltöffnungen enthalten. Eine Übersicht über die Verteilung der Myrosinzellen bei den Cruciferen und ihren Verwandten gab Solereder (I).

5. Emulsin

ist das Ferment, welches das Amygdalin in Traubenzucker, Cyanwasserstoff und Benzaldehyd zu spalten vermag und das in amygdalinführenden Pflanzen häufig angetroffen wird (vgl. p. 192). Ähnlich wie bei den Cruciferen die Senfölglykoside und das dieselben spaltende Ferment Myrosin in verschiedenen Elementen, also räumlich getrennt, vorkommen, so kommt, wie Johannsen (I) auf makrochemischem Wege zeigen konnte, auch bei den bitteren Mandeln eine räumliche Trennung von Amygdalin und Emulsin vor. Das Glykosid liegt im Parenchym der Keimblätter und das Ferment, das man bei allen (den süßen und bitteren) Mandeln vorfindet, in den axilen Partien des Embryo und den Gefäßbündeln der Kotylen.

Mikrochemisches. Spezifisch mikrochemische Reaktionen, die eindeutig Emulsin anzeigen, gibt es derzeit nicht. Guignard (V) hat dieselben Proben, mit denen er die Lokalisation des Myrosins dartun konnte, auch zum mikrochemischen Nachweis des Emulsins herangezogen, ich meine die Millonsche, die Biuretprobe und die mit Orcin-Salzsäure (vgl. p. 324). Er untersuchte die Blätter von Prunus Laurocerasus und findet den Sitz des Glykosids in dem Parenchymgewebe und den des Emulsins im Stranggewebe: in der Endodermis und im Perizykel der Leitbündel.

Nach Lutz (I) findet sich in den Samen von Eriobotrya japonica das Amygdalin im Embryo und in den Keimblättern, das Emulsin aber nur in den letzteren.

Zum eindeutigen qualitativen mikrochemischen Nachweis von Emulsin (im Sinne eines Gruppenbegriffs) lassen sich nach Brunswik (I) die auf p. 196 angeführten Blausäurereaktionen mit Silbernitrat und Benzidinkupferacetat heranziehen.

Die fein zerriebene oder gepulverte Substanz oder Schnitte werden in einer Mikroglaskammer mit fixem Boden mit 5% Amygdalinlösung,

die überdies ein Antiseptikum in Form von Toluol oder Chloroform enthält, angerührt und höchstens 24 Stunden der Fermentation bei Zimmertemperatur überlassen.

Nach 1½ bis 8 Stunden ist bereits abgespaltene CNH im hängenden Tropfen bei Anwesenheit von Emulsin nachweisbar.

Ein lokalisierter Nachweis des Emulsins gelang auch Brunswik nicht, doch scheint es ihm wahrscheinlich, daß das Emulsin der Fermentausrüstung jeder einzelnen Zelle angehört und der Rosaceentypus mit spezifischen Emulsinzellen nur einen Spezialfall darstellt.

Gegenüber der Arbeit von Guignard bemerkt Peche (I, 9—10), daß ihm die erwähnten Eiweißreaktionen in den Gefäßbündelscheiden von Prunus Laurocerasus nicht gelangen. Er erzielte mit Millonschem Reagens nur eine gelbbraune und mit der Biuretprobe nur eine grüne oder kupferoxydulrote Färbung. Auch sah er die Palisadenzellen ebenso starke oder fast die gleiche Färbung geben wie die Gefäßbündelscheiden.

Auf Grund eigener Erfahrungen mit dem Kirschlorbeerblatt kann ich sagen, daß im Gegensatz zu den Myrosinzellen der Cruciferen die Emulsin führenden Elemente mit Millonschem Reagens keine ausgesprochenen Rotfärbungen geben, daß die verschiedensten Zellen des Blattes bräunliche oder bräunlichrote Färbung in ihrem Inhalte aufweisen und daher von einer sicher nachweisbaren Lokalisation des Emulsins kaum gesprochen werden kann. Der mikrochemische Nachweis des Emulsins mit Hilfe von Eiweißreagentien liegt eben, besonders bei Gegenwart von reichlichem Eiweiß- und Gerbstoffgehalt der Zellen, noch sehr im Argen, und bei dieser Sachlage wird man Schlüsse betreffend die Lokalisation des Emulsins nur mit äußerster Vorsicht ziehen dürfen.

Verbreitung. Das Emulsin genießt nach neueren Untersuchungen eine weite Verbreitung. Es findet sich nicht bloß in der Familie der Rosaceen sehr häufig, sondern auch im Milchsafte von Manihot, in den Samen der meisten Leguminosen, in den Blättern von Aucuba japonica, Thalictrum aquilegifolium, Sambucus nigra, Viburnum prunifolium, in den Wurzeln vieler Orchideen, in zahlreichen Pilzen, gewissen Flechten und zahlreichen anderen Pflanzen. Es dürfte sich wohl nicht immer um ein und dasselbe Ferment, sondern um einander sehr nahestehende Fermente handeln, also um Emulsine im Sinne eines Gruppenbegriffes.

Literatur

zu p. 285 bis 326.

Albo, G., I. Sulla funzione fisiologica della Solanina. (Contrib. alla Biologia veget. 1899, Vol. II, p. 185—209, Palermo.)

Anema, P., I. Jahresber. d. Pharmazie, p. 197, Göttingen 1892.

—, II. Dezetel der alkaloïden bij enkele narkotische planten. Utrecht 1892.

Bach und Chodat, I. Ber. d. chem. Ges. 1903, p. 606; 1904, p. 36 und 1342.

Barth, H., I. Studien über den mikrochemischen Nachweis von Alkaloiden in pharmaz. verwendeten Drogen. (Bot. Zbl. 1898, Bd. LXXV, p. 225.)

Bauer, K., I. Der mikrochemische Nachweis des Berberins in Pflanzen und Drogen. (Ztschr. d. österr. Apothekervereins 1908, Jg. 46, p. 355.)

Behrens, H., I. Anleitung zur mikrochemischen Analyse usw. 1896, 3. Heft.

Biedermann, W., I. Fermentstudien. V. Mitteilung: Fermentbildung durch Ionenwirkung. Fermentforschung, Bd. IV, Heft 1, p. 1.

Blau, H., I. Colchicingehalt der Herbstzeitlosensamen. (Ztschr. d. allg. österr. Apothekervereins 1903, Bd. XLI, p. 1091.)

Boedeker, I. Ann. d. Chemie u. Pharm. 1848, Bd. LXVI, p. 384.

Borščow, El., I. Beiträge zur Histochemie der Pflanze. (Bot. Ztg. 1874, p. 33.)

Brandstetter, J., I. Über den mikrochem. Nachweis des Cocains in Erythroxylon Coca. (Pharm. Monatshefte. Wien 1922.)

Brandt, I. Über einige neue Alkaloidreaktionen. Rostock 1876. Zitiert nach Wothtschall.

Brunswik, H., I. Der mikrochemische Nachweis pflanzlicher Blausäureverbindungen. (Sitzungsber. d. Akad. d. Wiss. in Wien 1921, Bd. CXXX, Heft 12.)

Cador, L., I. Anatomische Untersuchung der Matéblätter unter Berücksichtigung ihres Gehaltes an Theïn. (Bot. Zbl. 1900, Bd. LXXXIV, p. 241.)

Clautriau, G., I. Nature et signification des alcaloïdes végétaux. (Bruxelles 1900. Ref: Justs bot. Jahresber 1901, Jg. 29, p. 159.)

—, II. Localisation et signification des alcaloïdes dans quelques graines. (Ann. de l. Soc. belge de microscopie 1894, T. XVIII, p. 34. Ref. Beihefte z. Bot. Zbl. 1894, Jg. 4, p. 420.)

—, III. Recherches microchimiques sur la localisation des alcaloides dans le Papaver somniferum. (Recueil d. Instit. Botan. [Univ. Bruxelles] Errera, 1906, T. II, p. 237. Ref.: Ztschr. f. wiss. Mikroskopie 1889, Bd. VI, p. 243.)

Droog, E. de, I. Contribution à l'étude de la localisation microchimique des alcaloïdes dans la famille des orchidées. (Recueil de l'Instit. Bot. [Univ. Bruxelles] 1906, T. II, p. 347.)

Eder, R., I. Über die Mikrosublimation von Alkaloiden in luftverdünntem Raume. Diss. Zürich, 1912.

Elfstrand, M., I. Upsala Universitets Arskrift 1895.

Errera, Maistriau et Clautriau, I. Première recherches sur la localisation et la signification des alcaloïdes dans les plantes. Bruxelles 1887.

Errera, L., I. Sur la distinction microchimique des alcaloïdes et des matières proteïques. Bruxelles 1889.

—, II. Some general results of the localisation of alcaloïds in plants. (Recueil de l'Institut Bot. [Univ. Bruxelles] 1906, T. II, p. 185.)

Feldhaus, J., I. Quantitative Untersuchung der Verteilung des Alkaloids in den Organen von Datura Stramonium L. Diss. Marburg 1903.

Gerock, J. E. und Skippari, F. J., I. Über den Sitz der Alkaloide in Strychnossamen. (Arch. d. Pharm., Berlin 1892,, Bd. 230, p. 555.)

Gordin, H. M., I. Archiv d. Pharm. 1902, Bd. CCXL.

Grafe, V., I. Studien über das Gummiferment. (Wiesner-Festschrift, p. 253, Wien 1908.)

—, II. Zur Abwehr. (Ztschr. f. physiol. Chemie 1909, Bd. LXIII, p. 106.)

Grüß, J., I. Über das Eindringen von Substanzen, besonders der Diastase in das Stärkekorn. (Fünfstücks Beitr. z. wiss. Bot. Bd. I, p. 310.)

—, II. Die Diastase im Pflanzenkörper. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1895, Bd. XIII, p. 2.)

—, III. Über Oxydasen und die Guajakreaktion. (Ebenda 1898, Bd. XVI, p. 129.)

—, IV. Über das Verhalten der Cytase und Cytokoagulase bei der Gummibildung. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1910, Bd. XLVII, p. 393.)

—, V. Biologie und Kapillaranalyse der Enzyme. Berlin 1912.

Grutterink, A., I. Beitr. zur mikrochemischen Analyse einiger Alkaloide und Drogen usw. Rotterdam 1911.

Grutterink, A., II. Beitr. zur mikrochemischen Untersuchung einiger Alkaloide. (Ztschr. f. anal. Chemie 1912, Jg. 51, p. 175.)

Guérin, P., I. Recherches sur la localisation de l'anagyrine et de la cytisine. (Bull. de la Soc. bot. de France 1895, p. 428. (Ref.: Bot. Zbl. 1896, Jg. 6, p. 18.)

Guignard, L., I. Sur la localisation des principes, qui fournissent les essences sulfurées des Crucifères. (Compt. rend. Paris 1890, T. CXI, sem. 1, p. 249.)

—, II. Sur la localisation des principes actifs chez les Capparidées. (Ebenda 1893, T. CXVII, p 493.) Tropaeolées. (Ebenda p. 587.) Limanthées. (Ebenda p. 751.) Resedacées. (Ebenda p. 861.)

—, III. Recherches sur la localisation des principes actifs chez les Capparidées, Tropaeolées, Limnanthées, Resedacées. (Journ. d. Bot. 1893, T. VII, p. 345, 393, 417, 444.)

—, IV. Recherches sur certains principes actifs encore inconnus chez les Papayacées. (Journ. d. Bot. 1894, p. 67.)

—, V. Sur la localisation dans les plantes des principes, qui fournissent l'acid cyanhydrique. (Compt. rend. 1890, T. CX, p. 477.)

Hanausek, T. F., I. Zur histochemischen Kaffeïnreaktion. (Ztschr. d. Allgem. Österr. Apothekervereins 1891, Nr. 31, p. 606. Ref.: Bot. Zbl. 1891, Bd. XLVIII, p. 284.)

Hartig, T., I. Über das Verfahren bei Behandlung des Zellkerns mit Farbstoffen. (Bot. Ztg. 1854.)

Heinricher, E., I. Vorläufige Mitteilung über die Schlauchzellen der Fumariaceen. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1887, Bd. V, s. auch Bd. IX [1891], p. 184.)

—, II. Die Eiweißschläuche der Cruciferen usw. (Mitteilung a. d. bot. Institut zu Graz 1888, p. 1.)

Herder, M., I. Über einige neue allgemeine Alkaloidreagentien und deren mikrochemische Verwendung. Diss. Straßburg 1905, p. 33.

Herrmann, O., I. Nachweis einiger organischer Verbindungen in den veget. Geweben. Diss. Leipzig 1876.

Jacquemin, A., I. Sur la localisation des alcaloïdes chez les Légumineuses. (Recueil de l'Institut Bot. L. Errera, Univers. Bruxelles 1906, T. IV, p. 257.)

Johannsen, W., I. Sur la localisation de l'émulsine dans les amandes. (Ann. des scienc. natur. Bot. sér. VII, T. VI, p. 118.)

Klebs, G., I. Einige Bemerkungen zu der Arbeit von Krasser usw. (Bot. Ztg. 1887, Jg. 45, p. 697.)

Klein, R., I. Über den mikrochem. Nachweis von Strychnin und Brucin im Samen von Strychnos nux vomica. Sitz.-Anzeig. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien vom 22. Januar 1914.)

Krabbe, G., I. Untersuchungen über das Diastaseferment usw. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1890, Bd. XXI, p. 520.)

Krasser, F., I. Untersuchungen über das Vorkommen von Eiweiß in der pflanzlichen Zellhaut, nebst Bemerkungen über den mikrochemischen Nachweis der Eiweißkörper. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1886, Bd. XCIV.)

Lindt, O., I. Über den mikrochemischen Nachweis von Brucin und Strychnin. (Ztschr. f. wiss. Mikroskopie 1884, Bd. I, p. 237.)

Lintner, C. J., I. Ztschr. Spir. 1886, 503.

Loew, O. und Bokorny, T., I. Die chemische Kraftquelle im lebenden Protoplasma. München 1882, p. 58.

Lotsy, J. P., I. De Localisatie van het Alcaloid in Cinchona Calisaya, Ledgeriana en in C. succirubra. (Mededeel van de Laboratoria des Gouvernements Kina onderneming No. 1. Batavia 1898. 20 Tafeln.)

—, II. Die Lokalisation der Alkaloide von Cinchona. (Amer. Drugg. and Pharm. Record. XXXIV, 1899, No. 2. Ref.: Justs Bot. Jahrb. 1899, Bd. II, p. 45.)

Lutz, L., I. Sur la présence et la localisation de l'émulsine dans les graines de l'Eriobotrya japonica. (Bull. de la Soc. Bot. de France. Sér. 3, T. IV, 1897, p. 263.)

Mandelin, I. Pharm. Ztschr. f. Rußland 1883, Nr. 22—24. Ref.: Justs Bot. Jahrb. 1883, Abt. I, p. 75.

Meyer, A., I. Untersuchungen über die Stärkekörner. Jena 1895, p. 228.

—, II. Morphologische u. Physiologische Analyse d. Zelle d. Pflanzen u. d. Tiere. I. Teil. Jena 1920, p. 189.

Metzger, K., Über Cocainchromat. (Pharmaz. Ztg., Berlin 1889, p. 697.)

Molisch, H., I. Grundriß einer Histochemie der pflanzlichen Genußmittel. Jena 1891.

—, II. Studien über den Milchsaft und Schleimsaft der Pflanzen. Jena 1901.

—, III. Über einige Beziehungen zwischen anorganischen Stickstoffsalzen und der Pflanze. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien, 1887, Bd. XCV p. 231.)

—, IV. Die Eiweißproben, makroskopisch angewendet auf Pflanzen. (Ztschr. f. Bot. 1916, p. 124.)

Molle, Ph., I. Recherches de microchimie comparée sur la localisation des alcaloides dans les Solanées. (Recueil de l'Instit. bot. [Univers. Bruxelles] 1906, T. II.)

—, II. Un alcaloïde dans Clivia miniata Benth. (Ebenda, T. VI, p. 57.)

Nasse, O., I. Über die aromatische Gruppe im Eiweißmolekül. (Ber. ü. d. Sitz. d. Naturf.-Ges. zu Halle 1879, Sitz. v. 8. März.)

Nestler, A., I. Der direkte Nachweis des Cumarins und Theïns durch Sublimation. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1901, Bd. XIX, p. 350.)

Nickel, E., I. Die Farbenreaktionen der Kohlenstoffverbindungen. (Berlin 1880, 2. Aufl., p. 7.)

Palladin, W., I. Pflanzenphysiologie. Berlin 1911, p. 205.

Pawlewski, Br., I. Über die Unsicherheit der Guajakreaktion auf wirksame Diastase. (Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Berlin 1897, Bd. II, 30. Jg., p. 1313.)

Peche, K., I. Mikrochemischer Nachweis der Cyanwasserstoffsäure in Prunus Laurocerasus L. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1912, Bd. CXXI, Abt. I, p. 33.)

—, II. Mikrochemischer Nachweis des Myrosins. (Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. 1913, p. 458.)

Pictet, A., I. Die Pflanzenalkaloide und ihre chemische Konstitution. Berlin 1900.

Pohl, J., I. Arch. exp. Pathol., Bd. XXXVIII. Zitiert nach Czapek, Biochemie, Bd. II, p. 469.

Pozzi-Essot, M. E., I. Contributions à la recherche microchimique des alcaloïdes. (Comptes rend. 1901, p. 1062.)

Raciborski, M., I. Beitr. z. bot. Mikrochemie. (Bull. de l'Acad. des scienc. de Cracovie 1906, p. 553.)

—, II. Ein Inhaltskörper des Leptoms. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1898, Bd. XVI, p. 52.)

Raciborski, M., III. Weitere Mitteilungen über das Leptomin. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1898, Bd. XVI, p. 119.)

—, IV. Einige Demonstrationsversuche mit Leptomin. (Flora 1898, Bd. LXXXV, p. 362.)

Raspail, I. Nouveau système de Chimie organique. Paris 1833.

Reichl, C., I. Eine neue Reaktion auf Eiweißkörper. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien. (Monatshefte f. Chemie 1889, Bd. X, p. 317.)

Reichl, C. und Mikosch, C., I. Über Eiweißreaktionen und deren mikrochem. Anwendung. (Jahrb. d. k. k. Ö. Realschule i. II. Bez. v. Wien 1890.)

Reinitzer, F., I. Über die wahre Natur des Gummiferments. (Ztschr. f. physiol. Chemie 1890, Bd. XIV, p. 453.)

—, II. Über die Enzyme des Akaziengummis usw. (Ebenda 1909, Bd. LXI, p. 352.)

—, III. Erwiderung betreffend die Enzyme des Akaziengummis. (Ebenda 1910, Bd. LXIV, p. 164.)

Röhrmann und Spitzer, I. Über Oxydationswirkungen tierischer Gewebe. (Ber. d. chem. Ges. 1895, Bd. XXVIII, p. 567.)

Rosoll, A., I. Über den mikrochemischen Nachweis des Curcumins und Coniins in den veget. Geweben. (29. Jahresber. d. niederösterr. Landes-Ober-Realschule usw. in Wiener-Neustadt 1894.)

—, II. Über den mikrochemischen Nachweis der Glykoside und Alkaloïde in den veget. Geweben. 1889/90. (25. Jahresber. d. niederösterr. Landes-Realgymnasiums zu Stockerau usw.)

Runquist, C., I. Mikrochemische Untersuchung der Radix Colombo. (Schweiz. Wochenschr. f. Chemie u. Pharmazie 1901, 280. Ref.: Justs bot. Jahresber. 1901, Bd. II, p. 86.)

—, II. Über den Sitz und die Verteilung der Alkaloide in Veratrum album. (Pharm. Post [Wien] 1901, Jg. 34, p. 117.)

Russel, N. W., I. Recherches sur la localisation de la Taxine chez l'If. (Assoc. franc. pour l'Avanc. des Sc. 31. sess. Montauban 1902, p. 693. (Ref.: Ztschr. f. wiss. Mikroskopie 1904, Bd. XXI, p. 528.)

Schaarschmidt, J., I. Über die mikrochemische Reaktion des Solanin. (Ztschr. f. wiss. Mikroskopie 1884, Bd. I, p. 61.)

Schweidler, J. H., I. Die systematische Bedeutung der Eiweiß- oder Myrosinzellen der Cruciferen usw. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1905, Bd. XXIII, p. 274.)

Schmidt, J., I. Pflanzenalkaloide. (Abderhaldens Biochem. Handlex. 1911, Bd. V, p. 402.)

Schwarz, F., I. Die morphologische und chemische Zusammensetzung des Protoplasmas. (Cohns Beitr. z. Biologie d. Pflanzen. Breslau 1892.)

Siim-Jensen, I. Beitr. z. botan. u. pharmakogn. Kenntnis v. Hyoscyamus niger L. Stuttgart 1901.

Solereder, H., I. Systematische Anatomie der Dicotyledonen. Stuttgart 1899, p. 70, 83, 90.

Spatzier, W., I. Über das Auftreten und die physiologische Bedeutung des Myrosins in der Pflanze. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1903, Bd. XXV, p. 71.)

Suzuki, U., I. On the localisation of theine in the tea leavee. (The Bull. of the college of Agric. Imp. Univ. Tokyo 1901, Vol. IV, p. 297.)

Toni, G. B. de, I. Ricerche istochimice preliminari sulla pianta del tabacco. (Justs bot. Jahrb. 1893, Bd. I, p. 323.)

Tschirch-Osterle, I. Anatom. Atlas d. Pharmakognosie und Nahrungsmittelkunde. Leipzig 1895—98.

Tschirch, A., I. Die Harze und Harzbehälter usw. Leipzig 1906, Bd. I, p. 883.
Tunmann, O., I. Beitr. zur Mikrochemie einiger Wurzeldrogen. (Handelsber. v. Gehe u. Comp., Dresden 1912, p. 165.)
—, II. Über die Alkaloide in Strychnos Nux vomica L. während der Keimung. (Arch. d. Pharm. Berlin 1910, Bd. CCXLVIII, p. 644.)
—, III. Über mikrochem. Alkaloidfällungen mit Chlorzinkjodlösung. (Apoth.-Ztg. Berlin 1917, p. 76.)
—, IV. Mikrochem. Sparteïn-Reaktionen. (Ebenda p. 100.)
—, V. Der Piperinnachweis bei der Erkennung des Pfefferpulvers. (Ebenda 1918, p. 353.)
Vanderlinden, E., I. Recherches microchim. sur la présence des alcaloides et des glycosides dans la famille des Ranonculacées. (Recueil de l'Instit. bot. Univ. de Bruxelles 1902, T. V, p. 135.)
Wasicky, R., I. Der mikrochem. Nachweis von Strychnin und Brucin im Samen von Strychnos nux vomica L. (Ztschr. d. Allgem. österr. Apotheker-Vereins Wien 1914.)
—, II. Die Anwendung mikrochem. Methoden zur Prüfung der Arzneikörper. (Ztschr. d. Allg. österr. Apotheker-Vereins 1919, Nr. 2.)
Weevers, Th., I. Die physiologische Bedeutung des Kaffeïns und des Theobromins. (Extr. d. Ann. d. Jard. Bot. de Buitenzorg 1907, 2. sér., Vol. VI, p. 1.)
—, II. Bemerkungen über die physiologische Bedeutung des Kaffeïns. (Ebenda, 1910, Vol. IX, p. 18.)
Wèvre, A. de, I. Localisation de l'atropine. (Bull. Soc. Belge de Microsc. 1887 T. XIII, p. 19. Ref.: Ztschr. f. wiss. Mikroskopie 1888, Bd. V, p. 119.)
—, II. Sur l'alcaloïde des Narcisses. (Recueil de l'Instit. Bot. [Univers. d. Bruxelles] 1906, T. II, p. 229.)
—, III. Recherches sur la technique microchimique des albuminoides. (Bull. de la Soc. Belge de Microsc. 1894, Année 20, p. 91. Ref.: Ztschr. f. wiss. Mikroskopie 1894, Bd. XI, p. 407.)
Wiesner, J., I. Über das Gummiferment, ein neues diastatisches Enzym usw, (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1885, Bd. XCII, Abt. I, p. 41.)
Wildemann, E., I. Présence et localisation d'un alcaloïde dans quelques Orchidées. (Recueil de l'Instit. Bot. [Univers. Bruxelles] 1906, T. II, p. 337.)
Winterstein, E. und Trier, G., I. Die Alkaloïde. Berlin 1910.
Wothtschall, E., I. Über die mikrochemischen Reaktionen des Solanins. (Zeitschrift f. wiss. Mikroskopie 1888, Bd. V, p. 19 und 182.)
Wurster, C., I. Über einige empfindliche Reagentien zum Nachweis minimaler Mengen aktiven Sauerstoffes. (Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 1886, Jg. 19, p. 3195.)
Zacharias, E., I. Über Eiweiß, Nukleïn und Plastin. (Bot. Ztg. 1883.)
—, II. Über die chemische Beschaffenheit des Zellkerns. (Ebenda 1881, Jg. 39, p. 170.)
—, III. Über den Zellkern. (Ebenda 1882, Jg. 40, p. 61.)
—, IV. Über die chemische Beschaffenheit von Cytoplasma und Zellkern. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1892, Bd. XI.)
Zimmermann, A., I. Die botanische Mikrotechnik. Tübingen 1892.
Zopf, W., I. Über die Gerbstoff- und Anthocyanbehälter der Fumariaceen und einiger anderer Pflanzen. Kassel 1886. (Bibliotheka Botanica.)
—, II. Zur physiologischen Deutung der Fumariaceen-Behälter. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1891, Bd. IX, p. 107.

C.

I. DIE ZELLHAUT.

C.

I. Die Zellhaut.

Die pflanzliche Zellmembran stellt kein chemisches Individuum, sondern fast immer einen Komplex von mehreren verschiedenen organischen Verbindungen dar, denen auch mineralische beigemengt sein können. Schon aus der Erwägung, daß sehr heterogene Stoffe auf ihrer Wanderung von Zelle zu Zelle die Zellhaut passieren müssen, folgt, daß Bestandteile der wandernden Lösung zurückbehalten und dann in der Membran deponiert werden können. Ebenso können beim Absterben der Zelle Stoffe nachträglich aus dem Zellinhalt aufgenommen und absorbiert werden. Aber häufig treten unter dem Einfluß des Plasmas chemische Reaktionen in der Membran selbst ein, die zur Entstehung neuer Stoffe oder zur Umwandlung bereits vorhandener führen und dann jenen chemischen Zustand bedingen, den man als Verholzung, Verkorkung, Verschleimung usw. bezeichnet.

Je weiter die Forschung vorschreitet, desto mehr zeigt sich, daß die Zusammensetzung der Zellhaut eine ungemein komplizierte ist, ich erinnere nur an die wichtigen und noch zu wenig beachteten Versuche und Beobachtungen Hansteen Cranners (I), nach denen die vegetative Zellhaut der Phanerogamen regelmäßig auch Phosphatide enthält.

Um die Mikrochemie der vegetabilischen Zellhaut zu behandeln, könnte man die einzelnen Bestandteile entweder in den betreffenden chemischen Abteilungen unterbringen, Zellulose, Gummi und Pektin bei den Kohlehydraten, das Suberin bei den Fetten, das Lignin bei den Aldehyden und anderen Stoffen, oder man behandelt die die Membran aufbauenden Körper im Zusammenhange, unbekümmert um die chemische Systematik. Der letztere Weg scheint mir der praktischere und übersichtlichere und deshalb soll er auch hier eingeschlagen werden.

1. Die Zellulosegruppe.

Die eigentliche oder echte Zellulose bildet bei den meisten Pflanzen das Grundgerüst der vegetabilischen Zellhaut. Sie ist ein Kohlehydrat, eine Polyose von der Formel $(C_6H_{10}O_5)_x$, die sich durch ihre große Resistenz und Unlöslichkeit in verschiedenen Chemikalien auszeichnet. Eine frisch bereitete Lösung von Kupferoxydammoniak ist das einzige Lösungsmittel, das man für diese Zellulose kennt.

Die Zellulosen lassen sich in zwei Gruppen teilen: die echten Zellulosen und die Hemizellulosen. Die echten umfassen alle jene Zellulosen, die relativ schwer hydrolysierbar sind und bei der Hydrolyse nur Glykose liefern, die mit dem Disaccharid Cellose zu einem größeren Komplex verknüpft ist. Die Hemizellulosen lassen sich hingegen viel leichter hydrolysieren und geben dabei gewöhnlich neben

Glykose und anderen Hexosen häufig auch Pentosen und erscheinen meist im Samen als Reservestoff deponiert, dienen hier also einer wesentlich anderen biologischen Aufgabe als die mechanisch wirksame echte Zellulose. Die Hemizellulosen sind alle bei 300° in Glyzerin löslich.

a) Echte Zellulosen.

Nachweis.

In den Membranen, die aus ziemlich reiner Zellulose bestehen (Sonnenblumenmark, Leinenfaser, Baumwolle usw.) kann die Zellulose durch folgende Mittel nachgewiesen werden:

1. Löslichkeit in Kupferoxydammoniak. Zellulose löst sich nach Aufquellung in Kupferoxydammoniak (vgl. p. 19). Durch Säuren, Alkalien, Salze, entwässernde Mittel, Alkohol und Zucker kann die Zellulose wieder gefällt werden. Chemisch nicht veränderte Zellulose erweist sich in den gewöhnlichen Lösungsmitteln und verdünnten Reagentien als unlöslich.

2. In konzentrierter Schwefelsäure verschwindet Zellulose unter Hydrolyse.

3. Mit Jod und Schwefelsäure färbt sich die Zellulose unter bedeutender Aufquellung tiefblau. Die Schnitte werden zunächst mit einer wässerigen Jodkaliumlösung (⅓% Jod + 1⅓% Jodkalium) durchtränkt und dann mit einem Tropfen konzentrierter Schwefelsäure (2 T. Schwefelsäure + 1 T. Wasser) versetzt. Die Schwefelsäure verwandelt die Zellulose in eine stark quellbare Substanz (Amyloid), welche Jod mit blauer Farbe speichert.

4. Chlorzinkjod (vgl. p. 18) färbt Zellulose blau bis violett. Das Reagens wirkt am besten, wenn es nicht verdünnt wird und die Wände von Wasser durchtränkt sind. Ein Überschuß von Wasser ist zu vermeiden. Nowopoprowsky (I) empfiehlt, um die mit seinem Chlorzinkjod (vgl. p. 19) erzielte Blaufärbung zu verstärken, Jodjodkaliumlösung (1% Jod + 1% Jodkali) beizufügen[1]).

1) Es ist von Interesse, daß sich nach Molisch (VII) auch gewisse Karbonate (Natrium-, Kalium-, Lithium-, Ammonium-, Silber- und Baryumkarbonat) und Kaliumnitrit, wenn sie in fester Form angewendet werden, mit Chlorzinkjod bläuen. Fügt man z. B. zu einem Körnchen Soda einen Tropfen Chlorzinkjod, so sieht man unmittelbar darauf im Mikroskope lebhafte Gasblasenentwicklung und die Bildung eines flockig häutigen Niederschlages, der sich samt den Sodateilchen intensiv violett bis blau färbt. Beim Zusammenkommen des Chlorzinkjods mit dem alkalisch reagierenden Karbonat entsteht gelartiges basisches Zinkkarbonat bzw. Zinkoxydhydrat, in dem wie in einer festen Lösung Jod in blauer Farbe eingelagert wird. Nach dem Gesagten darf man sich nicht wundern, daß auch viele Pflanzenaschen sich mit dem genannten Jodpräparat bläuen. Aschen, die der Hauptmasse nach aus Kali-, Natron- und Magnesiakarbonat bestehen, bläuen sich teilweise oder ganz. Auch Kristalle von Kalkoxalat (Sambucus nigra-Kristallsandzellen), die bei der Veraschung in Kalkkarbonat oder Kalziumoxyd übergehen, und Zystolithen erfahren oft mit Chlorzinkjod eine Bläuung, doch nicht immer; verschiedene Aschen verhalten sich darin sehr verschieden (Molisch, VII).

Dischendorfer (I) hat den chemischen Vorgang meiner Reaktion genauer verfolgt und kommt im wesentlichen zu denselben Anschauungen wie ich.

5. Chlorcalciumjodlösung, Jodzinnchlorid und Jodphosphorsäure (vgl. p. 19) wirken ähnlich wie Chlorzinkjod.

6. Farbstoffe. Gewisse Farbstoffe färben vorzugsweise nur die aus reiner Zellulose bestehenden Membranen.

a) Hämatoxylinlösung (vgl. p. 21) färbt, abgesehen vom Zellkern und plasmatischen Teilen, reine Zellulosemembranen intensiv violett, hingegen die verholzten und verkorkten zunächst nicht oder nach längerer Einwirkung gelb bis braun (Giltay I). Auch die sogenannte Böhmersche und Delafieldsche Hämatoxylinlösung (vgl. p. 22) kann dieselben Dienste leisten.

β) Kongorot in konzentrierter wässeriger Lösung färbt nach Zimmermann (I, 139) junge Zellhäute bei 24stündiger Einwirkung rot, und Klebs (I) bediente sich dieses Farbstoffes, gelöst in Zucker, um Zellulosehäute intra vitam der Zelle zu färben.

Mangin (V) empfiehlt folgende Azofarbstoffe für die direkte Färbung der Zellulose. Schwach wirken in saurem oder neutralem Bade Orseillin BB, Brillant-Croceïn, Scharlach-Croceïn, Naphthol-schwarz, stark färben in alkalischem Bade Benzidin-, Toluidin- und Xylidinfarbstoffe, Kongorot, Kongo-Korinth, Heliotrop, Benzopurpurine, Deltapurpurine und verschiedene Sorten Azoblau, Azoviolett und Benzoazurin. Die genannten Farbstoffe wirken indessen nur sofort und leicht auf die Membranen, die der Hydrozellulose nahestehen, also auf Bastzellen, ruhende Kambialzellen, Wurzelhaubenzellen usw. Sie färben aber sofort alle Zellulosehäute, die vorher mit Alkalien behandelt wurden.

7. Kristallisation. Gilson (I) ist es gelungen, die Zellulose zur Kristallisation zu bringen. Die Schnitte werden 12 Stunden oder länger in einem verschließbaren Gefäß in Kupferoxydammoniaklösung eingelegt. Die Kupferlösung wird dann von den am Boden liegenden Schnitten abgegossen und durch Ammoniak ersetzt, nach einer halben Stunde wieder erneuert und dies so lange fortgesetzt, bis die Schnitte farblos geworden sind. Nun werden sie mit destilliertem Wasser gewaschen und eventuell mit verdünnter Salz- und Essigsäure aufgehellt. — Um schöne Kristalle zu erhalten, ist es zweckmäßig, den Zellinhalt vorher möglichst zu entfernen. Gilson behandelt zu diesem Zwecke mit 1—2proz. Kalilauge oder Javellescher Lauge und wäscht dann mit destilliertem Wasser nach. Fette werden durch Äther entfernt. Stärkereiche Objekte ind zu vermeiden. Die Zellulosekristalles liegen meist der Wand an, bilden sternartige Aggregate, Kugeln oder Sphärite (Fig. 103). Sie sind unlöslich in verdünnten Säuren und Alkalien, jedoch löslich in Kupferoxydammoniak. Chlorzinkjod färbt blauviolett, Kongorot intensiv rot.

Die Zellulose-Reaktionen treten nur deutlich auf, wenn die betreffenden Zellhäute nahezu aus reiner Zellulose bestehen. Sind sie verholzt, verkorkt, kutikularisiert oder hochgradig mineralisiert, so versagen die Reaktionen mehr oder minder. Sie können aber auch in solchen Membranen eintreten, wenn man die neben der Zellulose vorkommenden Stoffe zerstört oder wegschafft. Werden z. B. verholzte Zellhäute längere Zeit mit Kalilauge, aus de Javelle oder mit Schulze Gemisch behandelt, so treten hierauf die Reaktionen prompt auf. Sie färben sich dann mit Chlorzinkjod tiefviolett und mit Jod und Schwefelsäure blau. Über Fälle des Ausbleibens der Zellulosereaktion, ihre Ursachen

und über Beispiele abnormen Auftretens von Zellulose vergleiche man die Übersicht bei RICHTER (I, 372).

Die Sphärokristalle aus der Membran der Caulerpa haben mit den von GILSON gewonnenen Sphäriten der Zellulose eine gewisse Ähnlichkeit und sollen deshalb hier erwähnt werden.

CORRENS (I) hat gefunden, daß die Membran von Caulerpa, wenn sie mit ziemlich konzentrierter Schwefelsäure behandelt und dann zur richtigen, nicht nach zu kurzer Zeit, Wasser hinzugefügt wird, in ein Haufwerk großer farbloser Körner verwandelt wird. Die dicken Caulerpa-Membranen der Stämmchen und des Blattes eignen sich am besten dazu. Es ist zweckmäßig, ohne Deckglas zu arbeiten und das Wasser dann zuzusetzen, wenn an den Membranquerschnitten die Schichtung nicht mehr zu sehen ist. Unter den Körnern kann man einfache und zusammengesetzte von verschiedener Größe (10 bis 60 μ) unterscheiden. Sie sind alle quellbar, manchmal radial gestreift, zeigen Doppelbrechung und entstehen aus der durch die Einwirkung der Schwefelsäure modifizierten Hauptmasse der Membransubstanz. Die Sphärite — als solche sind die Körner zu bezeichnen — zeigen nicht die Reaktionen der Zellulose, lösen sich aber in Kupferoxydammoniak, schon in 12proz. Natronlauge, in konzentrierter Essigsäure und rauchender Salpetersäure. CORRENS konnte bei allen untersuchten Caulerpa-Arten und auch bei zwei Bryopsis-Arten die erwähnten Sphärite gewinnen, was in systematischer Beziehung von Wichtigkeit ist.

Fig. 103. Zellulosekristalle, gewonnen nach GILSON, an den Wänden des Wurzelparenchyms vom Radieschen (Raphanus sativus). Vergr. 250.

Die chemische Zusammensetzung der Caulerpa-Membran wurde genauer von MIRAUDE (I) verfolgt. Er konnte zeigen, daß sie in merkbarer Menge weder Zellulose noch Chitin enthält, wohl aber in großer Quantität Pektin und Callose. Über die Verbreitung der Callose vergleiche man auch p. 352.

b) Hemizellulosen.

Insbesondere in Pflanzensamen und Fruchtschalen, im Holzkörper und in der Rinde der Bäume kommen neben echter Zellulose sogen. Hemizellulosen vor (vgl. p. 335). Sie lösen sich im Gegensatz zu echter Zellulose leicht in kochenden verdünnten Säuren, z. B. 1proz. Salzsäure, geben bald die bekannten Jod-Zellulosereaktionen, bald nicht oder färben sich mit Jod schon allein blau. Ihrer verschiedenen chemischen Zusammensetzung entsprechend liefern sie Dextrose, Mannose, Galaktose oder Gemische von diesen, zuweilen noch Xylose oder Arabinose und neben diesen Spaltungsprodukten werden sie als Dextrane, Mannane, Galaktane, Manno-Galaktane, Galakto-Arabane usw. unterschieden (GRAFE I, 43). Sehr häufig werden Hemizellulosen in den Zellwänden deponiert und spielen hier die Rolle eines Reservestoffs, da sie

bei der Keimung aufgelöst und gleich der Stärke als Baustoff verwendet werden (Reiss I; Schulze I. 355).

In den Wänden der Samenschalen kommen aber auch Hemizellulosen vor, die bei der Keimung keine Verwendung finden, es braucht sich daher der Begriff Reservezellulose und Hemizellulose nicht zu decken. — Im Endosperm von Phoenix dactylifera, Phytelephas, Liliaceen, Irideen, im Samen von Leguminosen werden die Hemizellulosen in großen Mengen als Reservestoff abgelagert. Bei der Keimung kann man ihre Auflösung in den Wänden mikroskopisch verfolgen. Ebenso geht aus den Untersuchungen von Schellenberg (I) hervor, daß die Innenlamellen der Libriformfasern häufig aus Hemizellulosen bestehen und, wenn die Fasern noch lebendes Plasma enthalten, im Frühjahr aufgelöst werden können (Vitis vinifera, Robinia Pseudacacia usw.). Auch im Parenchym der primären Rinde (Birke, Erle, Haselnuß usw.) und im Parenchym des Leptoms (Vitis vinifera, Alnus glutinosa, Betula verrucosa) konnten im Frühjahr an den Wänden Auflösungserscheinungen beobachtet werden. Alle diese Membranschichten bestehen aus Hemizellulosen und können mikrochemisch dadurch nachgewiesen werden, daß sie sich in verdünnter mineralischer Säure (3 proz. Schwefelsäure) lösen. Echte Zellulose bleibt unter diesen Umständen ungelöst zurück.

Mikrochemische Reaktionen zur Unterscheidung der einzelnen Hemizellulosen kennt man leider derzeit nicht. Es seien daher nur folgende Hemizellulosen hervorgehoben.

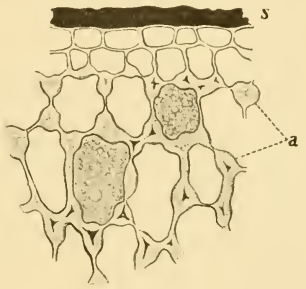


Fig. 104.
Impatiens Balsamina. Teil eines Querschnittes des Samens.
s Samenschale. Die kollenchymatisch erscheinenden Wandverdickungen *a* des Keimblattgewebes bestehen aus Amyloid (Reservezellulose). Vergr. 250.

Amyloid.

Die Zellwände zahlreicher Samen werden durch Jod direkt blau. Die sich bläuende Substanz wird als Amyloid bezeichnet. Winterstein (I) hat diesen Körper aus den Samen von Tropaeolum majus, Paeonia officinalis und Impatiens Balsamina durch 1 stündiges Kochen mit destilliertem Wasser extrahiert und durch Fällen mit Alkohol als farblose Gallerte gewonnen. Sie trocknet über Schwefelsäure zu einer amorphen Masse ein, quillt mit Wasser auf, bildet mit kochendem Wasser eine schleimige, schwer bewegliche und etwas opalisierende Masse. Diese färbt sich mit Jod blau. In Kupferoxydammoniak löst sich das Amyloid nach einem Tage, wird aber im Gegensatz zu Zellulose durch Säuren nicht abgeschieden, wohl aber durch Alkohol. Das Amyloid enthält reichlich Galaktoarabane (Winterstein I), es ist also von der Stärke vielmehr verschieden, als man früher angenommen hat.

Bei Impatiens Balsamina, wo Heinricher (I) das Vorkommen von Amyloid genauer verfolgt hat, sind die Mesophyllzellen des Keim-

blattes eigenartig ungleichmäßig verdickt. Die Verdickungen konzentrieren sich vorwiegend auf die Zellecken, wodurch das Gewebe einen kollenchymatischen Charakter erhält (Fig. 104). In konzentrierter Schwefelsäure lösen sich die Wände unter Aufquellung mit Ausnahme der Mittellamellen auf, desgleichen in konzentrierter Salz- und Salpetersäure, hier aber langsamer. In Jodtinktur und Chlorzinkjod tritt bei Impatiens B. keine Blaufärbung ein, wohl aber in Jodjodkalium. Färben sich darin die Wände braun bis braunschwarz, so verdünne man mit Wasser. Es erscheint dann die blaue Farbe. In Kupferoxydammoniak quellen die Wände stark auf, mit Kongorot färben sie sich intensiv rot. Da sie bei der Keimung größtenteils aufgelöst werden, spielen sie zweifellos die Rolle einer Reservezellulose.

Abgesehen von diesem Reserve-Amyloid gibt es aber noch eines, das nicht als Reservestoff, sondern als Zwischenprodukt beim Aufbau der Zellhaut zu fungieren scheint. Auf die weite Verbreitung dieses Amyloids hat Ziegenspeck (I) aufmerksam gemacht. Wenn Querschnitte durch den Stamm von Lycopodium clavatum und anderen Arten dieser Gattung in Jodjodkaliumlösung eingelegt werden, so färben sich die Wände des ganzen Siebteils, besonders aber die der Siebröhren blau. Die anderen Lycopodiaceen (Psilotum, Selaginella), die Equiseten, Polypodiaceen, Osmundaceen, Ophioglosseen und Hydropteriden verhalten sich insofern anders, als hier der erwähnte Stoff nur in jungen, noch wachsenden Anteilen auftritt und sich durchaus nicht auf den Siebteil beschränkt. Junge Nadeln und Triebe von Gymnospermen zeigen die Bläuung gleichfalls. Von Monokotylen eignen sich zur Demonstration besonders die Grasknoten und das noch weiche, interkalar wachsende Internodium. Bei den Dikotylen liegen die Verhältnisse verschieden. Hier wurde das Amyloid im Weichbast vermißt (Ampelopsis, Tilia, Corylus, Quercus, Aristolochia), oder es bläuen sich die Siebröhren besonders stark, während das angrenzende Gewebe sich nicht oder kaum bläut, wobei aber zu bemerken ist, daß jüngste und ältere Stammteile die Bläuung vermissen lassen. In vielen Kollenchymen finden sich zwischen den aneinanderstoßenden Zellen die bekannten Zwickel, die von Buscalioni als „ähnlich den Oxalatkristallen in Zellulosehüllen eingeschlossene Stärkekörner" beschrieben wurden. Sie sind z. B. an nicht zu alten Blattstielen von Tropaeolum sehr gut zu beobachten. Diese Zwickel bläuen sich mit Jodjodkalium, haben aber mit Stärkekörnern nichts zu tun, sie sind eben Amyloidzwickel.

Ziegenspeck rechnet die von ihm beobachteten Amyloide zu den Hydrozellulosen, die bei der Fertigstellung der Zellhaut als Zwischenprodukte auftreten.

Amylomycin.

Gewisse Pilzmembranen werden mit Jod direkt blau: die Schlauchspitzen zahlreicher Disco- und mancher Pyrenomyceten (Sordaria, Sphaeria), die Hyphen von Dematium pullulans, die Sporenhäute von Schizosaccharomyces octosporus usw. (Czapek I, 513). Ob die die Blaufärbung bedingende, von Crié (I) Amylomycin benannte Substanz Amyloid oder etwas anderes ist, bleibt vorläufig völlig zweifelhaft.

Geasterin.

Bei Geaster forvicatus konnte Wisselingh (I, 654) an den Hyphen des Peridiums und des Kapillitiums mit Jodjodkaliumlösung und Schwefelsäure und mit Jodjodkaliumlösung und Chlorzinkjod bisweilen eine Blaufärbung beobachten. Die Membransubstanz löst sich in Gly-

zerin unter 250° auf, kann daher keine echte Zellulose sein. Er nennt diese Substanz Geasterin.

Usneïn.

Wisselingh (I, 654) fand bei Usnea barbata in den Hyphenmembranen, besonders des axilen Stranges, einen Stoff, der durch Jodjodkaliumlösung und Schwefelsäure mäßig violett gefärbt und Usneïn genannt wurde. Zwischen den Hyphen des Stranges findet sich eine Art Interzellularsubstanz vor, die sich mit Jod und Schwefelsäure noch stärker als die Hyphen färbt. In Glyzerin auf 300° erhitzt, löst sich das Usneïn auf.

2. Chitin.

Wenn man die gewöhnlichen Zellulosereaktionen auf die Zellwände der Pilze anwendet, so erhält man sehr verschiedene Resultate. Manche geben die Reaktionen, einzelne färben sich mit Jodlösung direkt blau, die meisten aber geben die Zellulosereaktion nicht und färben sich mit den Jod-Zellulosereagentien gelb bis braun. Das war der Grund, warum de Bary (I, II) in den Pilzmembranen eine besondere Zellulose annahm und sie mit dem Namen „Pilzzellulose" belegte. Demgegenüber suchte K. Richter (I) zu zeigen, daß die Pilze keine besondere, sondern gewöhnliche Zellulose enthalten und daß die Pilzmembranen nur deshalb die Zellulosereaktionen nicht geben, weil sie mit anderen Stoffen, vielleicht mit eiweißartigen Substanzen inkrustiert sind. Er stützt sich dabei auf die Tatsache, daß die Pilze, die die gewöhnlichen Zellulosereaktionen nicht geben, dennoch auf Zellulose reagieren, wenn man sie vorher einer längeren Mazeration in 7—8proz. Kalilösung 2—3 Wochen bis 2—3 Monate unterwirft und dann prüft. — Heute weiß man auf Grund der wichtigen Arbeiten namentlich von Gilson, Winterstein, Iwanoff und Wisselingh (I), daß die Pilze, die direkt keine Zellulosereaktionen geben, und dazu gehört die große Mehrzahl, weder eine Pilzzellulose noch gewöhnliche Zellulose führen, sondern an Stelle der Zellulose Chitin enthalten, einen Stoff, der im Tierreiche bei der Skelettbildung der Arthropoden eine große Rolle spielt.

Eigenschaften des Chitins. Die Zusammensetzung dieses stickstoffhaltigen Körpers ist noch zweifelhaft; nach Araki soll ihm die Formel $C_{18}H_{30}N_2O_{12}$, nach Ivoine $C_{30}H_{59}O_{19}N_4$ und nach Brach $(C_{32}H_{51}N_4O_{21})x$ zukommen. Bei Behandlung mit Ätzkali und wenig Wasser bei 180° (als Maximum) gibt Chitin unter anderem Chitosan (= Mykosin), $C_{14}H_{26}N_2O_{10}$ und Essigsäure. Und Chitosan liefert beim Kochen mit konzentrierter Salzsäure Glukosamin, $C_6H_{13}NO_5$, und Essigsäure.

Chitin ist unlöslich in Wasser und organischen Lösungsmitteln, löslich in konzentrierter Salzsäure und Schwefelsäure unter Braunfärbung. Wirkt die Salzsäure lange ein, erfolgt Hydrolyse unter Glukosaminbildung. Jodlösung färbt Chitin bräunlich, auf Zusatz von Schwefelsäure geht der Farbenton ins Rötliche, manchmal ins Violette über, welche Färbung durch Kochsalz verstärkt wird. Chlorzinkjod färbt violett, wenn es wenig Jod enthält.

Viel intensivere Färbungen gibt das Spaltungsprodukt, das Chitosan (Mykosin Gilsons), mit Jodpräparaten. Es färbt sich mit ver-

dünnter Jodlösung intensiv violett, welche Farbe auch bei anhaltendem Waschen nicht verschwindet. Jodjodkalium + Chlorzinkjod färbt Chitosan rotviolett, Brom scharlachrot (G. Zemplén I).

Der mikrochemische Nachweis des Chitins wurde von Wisselingh (I, 637, II) geführt. Er stützt sich dabei auf die von Gilson gefundene Tatsache, daß Chitin durch Erwärmung mit Kalilauge bis auf 180° in Chitosan (Mykosin) übergeführt wird und dieses sich durch Jodjodkaliumlösung, die eine Spur freier Säure enthält, rötlich-violett färbt. Die Pilzprobe wird mit konzentrierter Kalilauge im zugeschmolzenen Glasrohr im Ölbad bis auf 180° C erwärmt, dann mit 90proz. Alkohol ausgewaschen und hierauf mit Jodjodkaliumlösung und verdünnter Schwefelsäure (1—47proz.) unterm Deckglas untersucht. Bei Gegenwart von Chitin nehmen die Zellwände eine schön violette Farbe an. Konzentrierte Schwefelsäure ist zu vermeiden, da sie die bereits eingetretene Reaktion verschwinden macht. Auch die Jodlösung soll nicht viel Jod ($^1/_5$—1%) enthalten. Eine Lösung von 0,2 Jod und zwei Teilen Jodkali auf 100 Teile Wasser wirkt günstig.

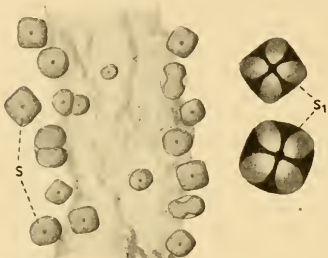


Fig. 105.
Chitosansphärite. *s* aus Lepiota (Parasolpilz), s_1 im polar. Lichte. *p* Pilzmasse. Vergr. 150 u. 460.

Chitosanhaltige Wände nehmen nach Behandlung mit Jodjodkaliumlösung und einer schwachen Chlorzinkjodlösung eine rötlich-violette Färbung an. Die Benutzung einer stärkeren Chlorzinkjodlösung mit 40—60% Chlorzink bewirkt eine blauviolette bis blaue Färbung, die Benutzung einer noch stärkeren veranlaßt Entfärbung.

Nach Vouk (1) genügt, um die Umwandlung des Chitins in Chitosan zu erzielen, auch schon Erhitzen des Materiales auf 110° durch 20 bis 30 Minuten in konzentrierter Kalilauge in einem mit einem Uhrglas bedeckten Becherglas.

Brunswik (I) hat zum mikrochemischen Nachweis des Chitins als willkommene Ergänzung die Fällung von kristallisiertem Chitosannitrat, Chitosansulfat und Chitosanchromat vorgeschlagen und damit gute Resultate erzielt. Er geht dabei in folgender Weise vor: Die zu untersuchenden Teile von Pflanzen oder Tieren werden in der bereits angegebenen Weise in Chitosan umgewandelt. Hierauf wird aus den Schnitten zuerst mit Alkohol, dann mit Wasser die anhaftende Kalilauge ausgewaschen. Wird nun ein stecknadelkopfgroßes Stück in 50proz. Salpetersäure unter Deckglas vorsichtig bis zum Kochen erwärmt, so verschwindet der Schnitt fast völlig, da alles Chitosan als Chitosannitrat in Lösung geht. Will man nun schöne Kristalle von Chitosannitrat erhalten, so muß möglichst langsam abgekühlt werden. Dann verwandeln sich die Schnitte, falls sie Chitin enthalten, in eine Kristallmasse, bestehend aus scheibenförmigen Sphäriten, Dellen und Hantelformen (Fig. 105), die im polarisierten Licht bei genügender Dicke das dunkle

Kreuz zeigen und nach dem Auswaschen der Salpetersäure sich mit Kongorot, Säurefuchsin, Pikrinsäure usw. färben.

In analoger Weise lassen sich auch die Chitosanchromat- und die Chitosansulfatkristalle gewinnen, und die Darstellung der Sulfatkristalle darf besonders empfohlen werden, weil sich damit auch die Jodfarbenreaktion verbinden läßt.

Stets wurden, gleichgültig ob man Pilze oder Tiere (Sepienschulpen, Cikaden oder Canthariden) untersuchte, die gleichen Kristalle erhalten, ein neuer Beweis, daß das Chitin im Pflanzen- und Tierreiche wohl identisch sein dürfte.

Vorkommen.

Zellulose kommt in Pilzmembranen verhältnismäßig selten vor, sehr häufig jedoch Chitin. Wisselingh (I, 684) fand Zellulose bei Myxomyceten (Didymium squamulosum), Peronosporeen (Plasmopara densa, Cystopus Portulacae) und Saprolegnieen (Saprolegnia dioica).

Chitin findet sich bei Myxomyzeten mit Ausnahme von Plasmodiophora Brassicae nicht vor. Hier treten nach F. Wettstein (I) an Stelle des Chitins und der Zellulose hornartige Stoffe oder Keratine auf (Plasmodiophora Brassicae). Wisselingh wies Chitin bei Chytridiaceen (Synchytrium Taraxaci), Entomophthoreen (Empusa muscae), Mucorineen (Mucor Mucedo, Chlamydomucor racemosus, Pilobolus crystallinus), Rhizopeen (Rhizopus nigricans) und bei fast allen untersuchten höheren Pilzen nach.

Bei den Bakterien, bei Saccharomyces cerevisiae, Fuligo septica und Cetraria islandica fand Wisselingh weder Zellulose noch Chitin, bei den höheren Pilzen Chitin, aber keine Zellulose und bei den Myxomyceten und Phykomyceten Chitin und Zellulose, aber in keinem einzigen Falle beide nebeneinander.

Die Angabe Wisselinghs (I, 684), daß Bakterien Chitin nicht enthalten, wurde zwar von Viehoever (I) bestritten, aber von F. Wettstein bestätigt.

Die Flechten verhalten sich verschieden. Bei einigen fehlt das Chitin ganz (Cetraria islandica usw.), im allgemeinen ist es hier in den Hyphen sehr verbreitet.

Nach Hegler (I) und Kohl (I) sollen auch die Wände zahlreicher Cyanophyceen Chitin enthalten, doch konnte weder Wester (I, 303) noch Klein (I) in den untersuchten Cyanophyceen Chitin nachweisen. Nach Klein enthalten die Blaualgenhäute reichlich Pektinstoffe und die Heterocysten sowie die Scheiden der Scytonemaceen Zellulose.

Der Membranstoff Chitin zeigt in seinem Vorkommen oder Fehlen oft deutlich die Verwandtschaft großer Thallophytengruppen an und kann Hand in Hand mit morphologisch-anatomischen Eigenschaften als systematisches Merkmal verwertet werden (Wettstein F. I).

3. Verholzte Membranen.

Zellhäute, die in Kupferoxydammoniak unlöslich sind, die gewöhnliche Zellulosereaktionen nicht oder nur mangelhaft geben, sich mit Phloroglucin-Salzsäure rotviolett und mit schwefelsaurem Anilin gelb färben, bezeichnet man als verholzt. Die Elementarorgane des Holzes, sehr viele Bast-, Mark- und Steinzellen haben verholzte Membranen. Da man mit verholzten Zellhäuten, die längere Zeit mit Kalilauge, Schulzes Mischung oder Chromsäure behandelt wurden, die Zellulosereaktionen prompt erhält, faßte man früher die verholzte Membran als Zellulosemembran auf, die mit bestimmten Stoffen inkrustiert

sei, und diese wurden als „Holzsubstanz" oder „Lignin" bezeichnet. Lignin ist also kein einheitlicher Körper, sondern ein Gemisch. Heute neigt man mehr zu der Ansicht, daß es sich im Lignin nicht um ein mechanisches Gemenge, sondern um eine chemische Bindung zwischen Zellulose und den Komponenten des Lignins handle. Für den

Nachweis der Holzsubstanz

stehen zahlreiche vortreffliche Farbenreaktionen zur Verfügung, die meist durch Phenole und aromatische Basen vermittelt werden.

1. Anilinsulfatlösung (0,1 g schwefelsaures Anilin + 10 ccm H_2O + 1 Tropfen Schwefelsäure) färbt verholzte Zellwände dottergelb. Salzsaures Anilin leistet dieselben Dienste.

2. Phloroglucin + Salzsäure. Ein Tropfen einer wässerigen oder alkoholischen (1—5proz.) Phloroglucinlösung wird auf den Schnitt gebracht und mit konzentrierter Salzsäure behandelt. Verholzte Wände werden kirschrot oder rotviolett.

Diese beiden von Wiesner (I, II) in die Histochemie eingeführten Reaktionen gehören zu den besten, die die botanische Mikrochemie kennt. Sie sind sehr empfindlich, tinktionskräftig und erscheinen ganz lokal. Über die Geschichte der Phloroglucinreaktion vgl. p. 147 und über die der Anilinsulfatprobe vgl. Burgerstein (I, 2. d. Sep.).

3. Indol. Reines Indol wird in warmem Wasser gelöst. Es ist nur in sehr geringer Menge löslich. Mit dieser Lösung werden die Schnitte benetzt, mit dem Deckglas bedeckt und dann 1—2 Tropfen verdünnter Schwefelsäure (1 Vol. H_2SO_4 vom spez. Gew. 1,2 und 4 Vol. H_2O) hinzugefügt. Verholzte Zellhäute färben sich dabei kirschrot (Niggl I).

4. Thallin = Tetrahydro-p-chinanisol = $C_9H_6NOCH_3H_4$. Verwendet wird eine konzentrierte Lösung des schwefelsauren Salzes dieser aromatischen Base in einer Mischung aus gleichen Teilen Alkohol und Wasser. Man lege die Schnitte zuerst in reinen Alkohol und dann für einige Zeit in ein Uhrschälchen mit dem Reagens. Verholzte Wände werden dunkelorangegelb, während Zellulose und verkorkte Wände ungefärbt bleiben (Hegler II, 33). Die Thallinlösung ist vor Licht zu schützen, weil sie sonst eine rosarote Färbung annimmt.

5. Kaliumpermanganat. Werden verholzte Membranen einige Zeit in eine Lösung von übermangansaurem Kali gebracht und mit Wasser ausgewaschen, so nehmen sie infolge der oxydierenden Wirkung des Mangansalzes eine gelbe bis braune Farbe an. Auf Zusatz von verdünnter Salzsäure werden sie wieder entfärbt. Setzt man nach dem Auswaschen der Salzsäure Salmiakgeist hinzu, so erscheinen die verholzten Häute weinrot bis tief karminrot. Mäule (I), der Entdecker dieser Holzstoffreaktion, verwendet eine 1proz. Permanganatlösung und läßt die Schnitte 5 Minuten darin liegen. Die Einwirkung der Salzsäure soll 2—3 Minuten währen, das Ammoniak kann auch in Dampfform, am besten gleich am Halse der Ammoniakflasche, einwirken.

Andere Reaktionen. Im Laufe der Zeit sind noch zahlreiche andere Holzstoffreagentien bekannt geworden, sie haben meist nur theoretisches Interesse und sollen daher nur in tabellarischer Übersicht angeführt werden. (Siehe Tabelle p. 345.)

Tabelle
über die übrigen wichtigeren Holzstoffreaktionen.

Reagens	Anwendung	Färbung der verholzten Membran	Literatur
Phenol	Eine wässerige konz. Lösung wird mit $KClO_3$ gesättigt und HCl gleichzeitig zugesetzt	blau oder grünblau	von Höhnel (I) Singer (I, 353) Molisch (I, 304)
Thymol		blaugrün	Molisch (I. 303)
Resorcin . . .	Alkohol. Lösung + HCl	blauviolett	Wiesner (II, 6 d. Separ.)
Brenzkatechin .	„ „	„	Wiesner (II, 6 d. Separ.)
Orcin	„ „	dunkelrot	Ihl (I)
α-Naphthol . .	15 % alkohol. Lösung, gleichzeitig mit konz. HCl	blaugrün	Molisch (I, 305)
Toluylendiamin	Konz. wässerige Lösung + HCl	dunkelorange	Hegler (II, 33)
Skatol	Konz. alkohol. Lösung + HCl	violett	Mattirolo (I)
Carbazol	Einige Min. in die warme konz. alkohol. Lösung, dann zum Schnitt 1 Tropfen HCl oder ein Gemenge von 1 Vol. H_2SO_4 u. 1 Vol. H_2O	rotviolett	Mattirolo Nickel (I, 59)
Metadiamidobenzol . . .	5 % wässerige Lösung	dottergelb	Molisch (II)
Benzidin	Gelöst in angesäuertem Wasser	gelb bis orangerot	Schneider (I)

Ferner gibt Holz und Salzsäure

mit Guajacol	eine gelbgrüne Färbung		Czapek (I, 567)
„ Kresol	„ grünliche „		
„ Anisol	„ grünlichgelbe „		Czapek (II, 147)
„ Anethol	„ „ „		
„ Paratoluidin	„ gelbe „		Nickel (I, 51)
„ Xylidin	„ „ „		
„ α- u. β-Naphtylamin	„ „ „		

Gertz (I) hat darauf aufmerksam gemacht, daß das Anthocyan nicht bloß ein gutes Kernfärbemittel ist, sondern auch zum Nachweis der Verholzung herangezogen werden kann, weil verholzte Zellwände diesen Farbstoff in auffallender Weise speichern. Die Schnitte lassen, wenn sie in eine mit Schwefelsäure angesäuerte, wässerige Anthocyanlösung eingelegt werden, die verholzten Zellwände oft schon nach 5—10 Minuten leuchtend purpurrot erscheinen. Behandelt man nach dem Auswaschen die Schnitte mit Bleiazetat, so wird der Farbstoff in blauer bis grüner Farbe ausgefällt. Das Anthocyan kann aber nicht als eindeutiges Holzstoffreagens angesehen werden, denn es färbt ja bekanntlich auch den Zellkern, ferner die Eiweißkristalle der Aleuronkörner, gewisse unverholzte Bastfasern, Kollenchymzellen, ja sogar, und zwar besonders stark, Moosmembranen, die, wie auch Gertz selbst betont, nie verholzen.

Worauf die Färbung der Zellwände mit Anthocyan zurückzuführen ist, ob auf gewisse Stoffe oder, wie Gertz (I, 25) meint, auf nicht näher bekannte, an spezielle Strukturverhältnisse gebundene Adsorptionserscheinungen, bleibt vorläufig unaufgeklärt.

Von Casparis (I) wird Rhodankobalt, $Co(SCN)_2.4H_2O$, als Holzstoffreagens empfohlen. Verwendet wird eine wässerige Lösung innerhalb gewisser Konzentrationsgrenzen, nämlich eine solche von roter bis violetter Farbe, entsprechend etwa einem Gehalt von 15—40%. Werden Schnitte in einen Tropfen dieser Lösung gebracht, so färben sich die verholzten Wände prächtig blau, während die Lösung selbst unterm Deckglas nur hellrot erscheint. Wird die Lösung verdünnt, so verschwindet die Färbung, durch Konzentrieren kann sie wieder hervorgerufen werden. Leider färben sich auch andere Zellbestandteile blau, z. B. Stärkekörner und Eiweißkristalle der Aleuronkörner, und da es sich bei dieser Reaktion wohl nur um eine Adsorptionserscheinung handelt, kann hier nicht weiter darauf eingegangen werden.

Begreiflicherweise hat man sich vielfach bemüht, die chemische Zusammensetzung der nichtzellulosen Bestandteile der verholzten Membran, des Lignins, zu eruieren. Man glaubte dies unter anderem dadurch zu erreichen, daß man diejenigen Stoffe, die die Holzstoffreaktionen bedingen, ausfindig zu machen suchte. Tiemann und Haarmann (I) glaubten, es sei das Coniferin, Singer (I, 360) betrachtete das Lignin als ein Gemenge von Coniferin, Vanillin und Holzgummi, wodurch die Aufmerksamkeit auf aromatische Aldehyde gelenkt wurde. Für das Vorkommen von aldehydartigen Substanzen im Lignin spricht auch das prompte Eintreten der Schiffschen Aldehydreaktion mit Rosanilin und schwefliger Säure. In der Tat gelang es Czapek (II), durch kochende Zinnchlorürlösung aus dem Holze eine Substanz abzuspalten, die die typischen Holzstoffreaktionen gibt und von ihm als ein aromatischer Aldehyd angesprochen und Hadromal benannt wurde. Nach Grafe (II, 295) handelt es sich aber bei Czapeks Hadromal nicht um einen einheitlichen Körper, sondern um ein Gemenge von Vanillin, Methylfurfurol, Brenzkatechin und Coniferin, welche Stoffe „zum Teil mit der Zellulose der Membran in ätherartiger Bindung stehen, zum Teil in Harz aufgenommen sind und zum geringsten Teile frei sich in der Membran finden" (Grafe, 294). Nach Czapek (I, 966) könnte es sich bei Brenzkatechin und Vanillin auch um Spaltungsprodukte seines Hadromals handeln. Klason (I, 38) hingegen ist der Meinung, daß Methylfurfurol und Vanillin nicht vorgebildet im Holze vorliegen, Methylfurfurol wahrscheinlich ein Zersetzungsprodukt von Kohlehydraten im Holze und Vanillin ein Zersetzungsprodukt von Coniferylalkohol ist. Nach Klason steht die Hauptmenge des Lignins gleich der Zellulose den kolloiden Stoffen nahe und kann weder als eine chemische Verbindung mit Zellulose noch als ihr Umwandlungsprodukt aufgefaßt werden. Man sieht, die Meinungen über das Lignin gehen so weit auseinander, daß es heute jedem Chemiker schwer fallen muß, sich eine bestimmte Meinung zu bilden.

Vorkommen der Verholzung.

Es ist von Interesse, daß die Fähigkeit, verholzte Wände zu bilden, sämtlichen Thallophyten und Moosen (Gjokić I) fehlt, erst in der Reihe der Pteridophyten auftritt (Linsbauer I) und von hier nach aufwärts allgemein verbreitet erscheint. Die Verholzung ist nicht bloß auf die Elementarorgane des Holzes beschränkt, sondern es können auch Stein-, Bast-, Mark-, Korkzellen sehr häufig, zuweilen auch Epidermiszellen, ja es können sogar die Wurzelhaare mancher Pflanzen (Hartwegia comosa, Sarcanthus rostratus usw.) (Molisch III, 107) und Wurzelepidermiszellen (Kroemer I, 14—17) verholzen.

Nach Burgerstein (I) verholzen sehr früh und zuerst die Gefäße, dann die Holzzellen, das Holzparenchym, die Bastzellen und endlich das Mark. Die Verholzung tritt nur ein unter Vermittlung lebenden Plasmas.

Die biologische Bedeutung der Verholzung kennt man heute mit Sicherheit nicht. Nach Schellenberg (I) wird die Festigkeit der Zellmembran durch die Verholzung nicht verändert, die Leitungsfähigkeit für Wasser nicht größer, sondern die physiologische Bedeutung soll in der Tatsache zu suchen sein, daß eine verholzte Membran kein Wachstum mehr zeigt und daß somit die verholzten Elemente gezwungen sind, sich nicht mehr zu ändern.

4. Verkorkte Membranen und die Kutikula.

Verkorkung.

Die Chemie der verkorkten Zellhäute ist noch vielfach unaufgeklärt. Auch hier handelt es sich zweifellos um eine sehr komplizierte Zusammensetzung. Charakteristisch für verkorkte Wände ist ein reicher Gehalt an Fettsäuren, nebenher kommen oft noch aromatische Körper, Gerbstoffe, Phlobaphene und auch Kohlehydrate in Betracht.

Im allgemeinen wird eine Zellwand, die in Kupferoxydammoniak und Chromsäure unlöslich ist, die Zellulosereaktionen direkt nicht zeigt und die bei den v. Höhnelschen (s. unten) Reaktionen die sogenannte Kali- und Cerinsäurereaktion gibt, als verkorkt bezeichnet.

Chevreul (I) glaubte, daß der Kork durch eine ganz bestimmte, in Wasser und Alkohol unlösliche Substanz ausgezeichnet ist und nannte sie Suberin. Mit demselben Namen bezeichnete v. Höhnel (II, 517) den Stoff in der verkorkten Membran und in der Kutikula, der seine Korkreaktionen gibt.

Einen bedeutenden Fortschritt in der Korkchemie brachte die Arbeit Küglers (I). Er wies im Flaschenkork einen in langen Nadeln kristallisierenden, in Alkohol und Äther leicht löslichen Körper, das Cerin ($C_{20}H_{32}O$) nach, der aber eigentlich zum Korkstoff nicht gehört, und glaubte in dem Suberin ein Fett zu erkennen, aus dem er Glyzerin, Stearinsäure und eine neue Säure, die Phellonsäure, $C_{22}H_{12}O_3$, abgeschieden hat. Mit Salpetersäure behandelt liefert das Suberin die gewöhnlichen Oxydationsprodukte der Fette, darunter auch Korksäure. Hierbei tritt auch Cerinsäure auf, doch ist dies nach Kügler kein einheitlicher Körper.

Gilson (II) stellte aus Flaschenkork drei Fettsäuren dar, die schon genannte kristallinische Phellonsäure, die amorphe Suberinsäure und die in feinen weißen Nädelchen kristallisierende Phloionsäure. Im Korke von Quercus Suber finden sich nach Gilson 44% rohe Fettsäure, 8% Phellonsäure, 36% Suberinsäure und etwas Phloionsäure.

In welcher Bindung und Form sich die Komponenten des Korks im intakten Gewebe vorfinden, ob als Glyzerinester von Fettsäuren (Kügler), ob als eine Mischung von wenig löslichen zusammengesetzten Estern (Gilson) oder als ein Gemenge von Anhydriden und Polymerisationsprodukten fester und flüssiger Säuren (v. Schmidt I, 241), ist eine strittige Frage (Zeisel I), die erst gelöst werden wird, wenn die Chemie des Korkes eine weitere Vertiefung erfahren haben wird.

Nachweis.

1. Kalireaktion. Bringt man auf ein verkorktes Gewebe konzentrierte Kalilauge, so färbt es sich unter kaum merklicher Quellung zunächst gelb. Erwärmt man gelinde über dem Mikrobrenner, so wird die verkorkte Membran stärker gelb, oft schön ockergelb, und gleichzeitig nimmt die nun stärker gequollene, früher glatte Membran eine gekörnelte oder gestrichelte Beschaffenheit entweder in ihrer ganzen Dicke oder nur in einer schmalen Lamelle an. Erhitzt man dann bis zum Kochen, so quellen die Membranen noch mehr, und es tritt dann aus ihnen eine gestrichelte oder gekörnelte Masse mit für jeden Kork bestimmten Eigentümlichkeiten hervor (Fig. 106). Die meist ockergelbe Masse bildet gewöhnlich Ballen, die nach Gilson aus Kaliumphellonat bestehen und sich mit Chlorzinkjod violett färben. Wäscht man den Schnitt unter Deckglas mit Wasser, so zerfließen die Ballen großenteils. Hatten sie Membranhüllen, so bleiben diese zurück. In diesem Stadium zeigt sich jede verkorkte Zellwand zusammengesetzt aus drei Lamellen, einer mittleren gemeinsamen und zwei, den beiden angrenzenden Zellen zugehörigen. Der Zwischenraum zwischen diesen Lamellen ist ursprünglich mit der körnigen Masse (Suberin) erfüllt. Nur verkorkte Wände und die Kutikula zeigen diese Reaktion. Die Kalilauge muß konzentriert sein. Übungsobjekte: Flaschenkork, Periderm von Pelargonium zonale, Gymnocladus canadensis usw. Diese von v. Höhnel (II, 524) eingeführte Reaktion beruht offenbar auf einer Verseifung der in der Wand vorhandenen Fettsäuren. Sie leistet ausgezeichnete Dienste und hat wesentlich beigetragen, die Korkchemie in Fluß zu bringen.

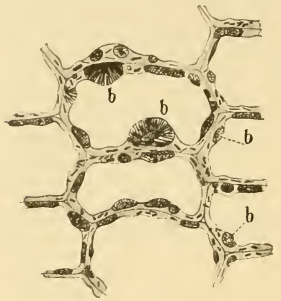


Fig. 106.
Korkstoff-Reaktion mit Kalilauge im Kork von Pelargonium zonale. Man sieht die aus der Suberinlamelle austretenden Ballen *b* (Seife) zum Teil in kristallisierter Form.

2. Cerinsäurereaktion. Wird ein Schnitt irgendeines verkorkten Gewebes mit Schulzeschem Gemisch (vgl. p. 20) unterm Deckglas erwärmt, so tritt bald stürmische Gasentwicklung ein, und vom Schnitte bleiben hauptsächlich nur die verkorkten Membranen übrig. Bei weiterem Erwärmen quellen die verkorkten Zellhäute plötzlich an und schmelzen zu einem Ballen zusammen, dessen Substanz in heißem Alkohol, Äther, Benzol, Chloroform und verdünnter Kalilauge löslich ist und aus Cerinsäure besteht (v. Höhnel II, 524).

3. Chromsäurelösung in reiner konzentrierter Form löst reine und verholzte Zellulosewände relativ rasch, hingegen nicht oder ungemein langsam die verkorkte Wand. Die letztere scheint in der Chromsäure, da sie sehr durchsichtig wird, zu verschwinden und sich zu lösen, aber wenn man die Chromsäure wegwäscht, so tritt sie nach 5- bis 10-tägiger Einwirkung unter dem Deckglas wieder scharf und dunkel hervor.

4. Optisches Verhalten. Verkorkte Membranen und die Kutikula sind stark doppelbrechend und die optischen Achsen sind hier

umgekehrt orientiert wie bei reinen Zellulosehäuten. Ambronn (I) hat gezeigt, daß die Doppelbrechung verkorkter Membranen beim Erwärmen auf 100° C vollständig verschwindet, bei Erkalten aber wieder zurückkehrt, während das optische Verhalten der angrenzenden Zellulosewände unverändert bleibt. Daraus darf man schließen, daß in der verkorkten Membran eine Substanz in kristallinischer Form mit gleichförmiger Orientierung der kleinsten Teilchen vorhanden ist, daß sie bei Siedehitze schmilzt, dabei optisch neutral wird und beim Erkalten wieder in derselben Form wie früher auskristallisiert. Man wird wohl nicht fehlgehen, wenn man dieses Verhalten auf eine fett- oder wachsartige Substanz bezieht. Übungsobjekte: Birkenkork und Epidermis von Clivia nobilis.

5. Farbstoffe. Die verkorkten Wände haben das Vermögen, gewisse Farbstoffe, namentlich solche, die von Fetten leicht aufgenommen werden, zu speichern. Es spricht dies gleichfalls für die fettartige Natur der Korksubstanz. Vortrefflich haben sich für diesen Zweck bewährt: Sudan III, Chlorophyll, Alkannin, Cyanin, Dimethylamidoazobenzol (Plaut II, 150) u. a.

α) Sudan III. Die Lösungen dieses Farbstoffes (vgl. p. 119) eignen sich in hohem Grade zur Ausfärbung verkorkter Wände und der Kutikula. Beide speichern den Farbstoff und färben sich dabei intensiv rot. Oft kann man die Suberinlamelle an der Färbung erkennen.

β) Chlorophyll. Verkorkte Wände und die Kutikula färben sich in alkoholischer, frisch bereiteter Chlorophyllösung grün, doch hat die Färbung keine lange Dauer (Correns I).

γ) Alkannin. Man läßt die Schnitte einige Stunden in einer Lösung dieses Farbstoffes in 50% Alkohol liegen. Verkorkte Wände und Kutikula färben sich dabei intensiv rot.

Störend ist, daß verholzte Membranen durch Alkannin — dasselbe gilt von Osmiumsäure — und durch Cyanin gleichfalls gefärbt werden, durch Alkannin und Osmiumsäure allerdings viel langsamer als verkorkte Zellhäute. Dieser Übelstand läßt sich aber nach dem Vorschlag von Zimmermann (II) leicht beseitigen, wenn man die Gewebe vorher mit Eau de Javelle (vgl. p. 20) verschieden lange — bis 60 Stunden — behandelt. Es werden dann die Stoffe der verholzten Membranen, die die Farbstoffspeicherung bedingen, ganz oder größtenteils zerstört, während dies bei den verkorkten Zellhäuten nicht der Fall ist.

Histochemisches.

Nach v. Höhnel (II, 568) besteht jede, zwei benachbarten Zellen angehörende Korkzellwand aus fünf Lamellen: einer mittleren (Mittellamelle), zwei Suberin- und zwei Zelluloselamellen. Die mittlere setzt sich aus verholzter Zellulose, die beiden sich anschließenden Suberinlamellen aus Zellulose und Suberin und die äußersten an das Lumen angrenzenden Zelluloselamellen aus reiner oder meist verholzter Zellulose zusammen.

Nach Wisselingh (II, III) und Fristley (I) entbehrt die Suberinlamelle der Zellulosegrundlage. Wenn das Suberin herausgelöst wird, bleibt in der Suberinlamelle keine Spur von Zellulose zurück. Die Violettfärbung, die nach der Behandlung mit Kali sich in der Suberin-

lamelle und besonders an den Ballenhüllen bei Zusatz von Chlorzinkjod einstellt, wird auf die Phellonsäure und ihr Kaliumsalz zurückgeführt. Diese beiden Substanzen färben sich auch mit Schwefel- und Salzsäure und Jod violett.

Viele verkorkte Membranen geben auch, insbesondere in der Mittellamelle, die Holzstoffreaktionen und damit im Zusammenhang steht vielleicht auch, daß Kügler im Kork auch kleine Mengen von Coniferin und Vanillin nachgewiesen hat.

Vorkommen der Verkorkung.

Verkorkte Wände findet man stets bei den Periderm- oder Korkzellen, ferner bei den Zellen der äußeren und inneren Endodermis, in einem eigentümlichen Gewebe unter der Fruchtschalenepidermis zahlreicher Capsicum-Varietäten, das man als verkorktes Kollenchym bezeichnen kann (Molisch IV), und bei zahlreichen Sekretbehältern (Zacharias I, Tschirch I, 180). Besonders häufig verkorkt sind die Wände von Behältern, die ätherische Öle enthalten, während Schleim- und Raphidenbehälter mit verkorkten Membranen nur selten gefunden werden: Aloë, Mesembryanthemum, Hohenbergia.

Kutikula.

Sämtliche Epidermiszellen, mit Ausnahme der Wurzel, sind mit einem äußerst zarten Häutchen, der Kutikula, bedeckt. Sie umkleidet auch die Haare und die Schließzellen bis in die Atemhöhle hinein. Dieses Häutchen hat in mancher Beziehung eine ähnliche Beschaffenheit wie die Suberinlamelle der verkorkten Wand und teilt auch ihre große Resistenz gegenüber Chromsäure, Schwefelsäure und Kalilauge, nur noch in viel höherem Grade. Die Meinung v. Höhnels (III), daß die Suberinlamelle und die Kutikula ihre Eigenschaften durch ein und denselben Stoff, durch das Suberin, erhalten, kann heute nicht mehr aufrecht erhalten werden, obwohl eine gewisse nähere Verwandtschaft zugegeben werden muß. Man nennt den Stoff oder das die Kutikula auszeichnende Stoffgemisch Cutin (Fremy). Nach Wisselingh (IV), der die Kutikula mikrochemisch untersucht hat, besteht das sogenannte Cutin aus einem Gemenge schmelzbarer und unschmelzbarer Substanzen. Die ersteren lassen sich in manchen Fällen durch Erhitzen der Epidermiswände in Wasser oder Glyzerin, in anderen Fällen durch Erhitzen der Objekte in den erwähnten Flüssigkeiten nach vorhergehender Mazeration mit wässeriger Kalilauge nachweisen. Es sind Fettstoffe, die man früher mit de Bary (vgl. p. 123) Wachs genannt hat.

Wisselingh konnte ferner mittels Kaliumhydroxyd aus den Epidermiswänden seifenähnliche Stoffe isolieren, aus denen durch Erhitzen mit verdünnten Mineralsäuren Substanzen abgeschieden werden konnten, die sich in kochendem Alkohol lösen, bei 70—80° schmelzen und als Säuren anzusprechen sind. Die in der Suberinlamelle vorhandenen Fettstoffe sind von denen der Kutikula verschieden, auch fehlt der letzteren die Phellonsäure. Zellulose ist nicht vorhanden. Im übrigen teilt die Kutikula viele Eigenschaften mit der verkorkten Wand: die schon erwähnte außerordentliche Resistenz gegenüber Chromsäure, Eau de Javelle, Schwefelsäure, die Kali-, Cerinsäurereaktion und die Färbbarkeit mit gewissen bereits erwähnten Farbstoffen.

Mit dem Schiffschen Reagens gibt die Kutikula eine Rotfärbung, weshalb Geneau de Lamarlière (I) hier einen aldehydartigen Stoff vermutet. Mit Hilfe dieses Reagens kann man die Kutikula, wie ich bestätigen kann, außerordentlich scharf ausfärben, die Kutikula reagiert in dieser Hinsicht genau so wie die verholzten Membranen.

Die unmittelbar unter der Kutikula liegenden Wandschichten zeigen oft einen ähnlichen chemischen Charakter wie die Kutikula selbst, nur in schwächerem Grade; sie werden Kutikularschichten genannt. Mit Chlorzinkjod treten diese drei Schichten oft scharf hervor: zu äußerst die Kutikula, dann die Kutikularschichten, beide, meist in verschiedenem Grade, braun gefärbt, und dann die Zellulose-schichten, violett gefärbt (Fig. 107).

Die Zellhäute der Pollenkörner und Sporen zeigen oft ähnliche Eigenschaften wie die Kutikula und die verkorkten Wände. Sie werden deshalb als kutinisiert bezeichnet. Die sie auszeichnenden Stoffe bedürfen noch genauerer Untersuchung.

Bedeutung der Verkorkung und der Kutikula. Der chemischen Beschaffenheit verkorkter und kutinisierter Häute kommt im Leben der Pflanze zweifellos eine besondere Wichtigkeit zu. Beide, Kork, und Kutikula, haben unter anderem die Hauptaufgabe, die Transpiration der Pflanze zu hemmen, und hierbei spielen die in der Membran eingelagerten fettartigen Stoffe eine große Rolle. Die höheren Landpflanzen stecken gewissermaßen in einem Fettmantel. Auch die verkorkten Wände der Endodermis und der Sekretbehälter dienen analogen Aufgaben; auch hier handelt es sich um eine Regulierung bzw. Hemmung des Stoffaustausches. Die Wurzelepidermis trägt, wie Kroemer (I, 20) und Rumpf (I, 13) gezeigt haben, keine Kutikula, die Zellen sind höchstens schwach kutinisiert. Dies erscheint begreiflich, da ja die Wurzelepidermis Wasser und die darin gelösten Nährstoffe aufzunehmen hat.

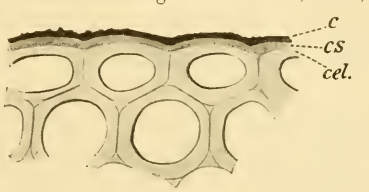


Fig. 107.
Stück eines Querschnittes durch das Blatt von Aucuba japonica. *c* Kutikula, *cs* Kutikularschichten und *cel* Zelluloseschicht. Vergr. 250.

5. Gummi und Schleime

sind Kohlehydrate, die im Wasser mehr oder minder quellen, eine Gallerte bilden oder sich lösen, in Alkohol, Äther, Schwefelkohlenstoff unlöslich sind und in vielen Fällen großenteils der Membran ihren Ursprung verdanken. Man unterscheidet oft noch heute zwischen Gummi und Schleimen, indem man als Gummi die klebrigen, fadenziehenden Kohlehydrate, als Schleime hingegen die nicht fadenziehenden, in Wasser quellenden membranartigen Stoffe bezeichnet. Ein strenger Unterschied existiert aber nicht, und es wird daher der Begriff Gummi und Schleim auch gleichsinnig gebraucht. Jedenfalls haben wir es mit hoch molekularen Kohlehydraten zu tun, von denen sich viele bei der Hydrolyse als Arabane, Galaktane und Galaktoarabane usw. entpuppen

und bei der hydrolytischen Spaltung bestimmte Gummisäuren liefern. Bezüglich der Details der Eigenschaften vergleiche man Wiesner (III). Zeisel (II) und Grafe (I).

Nachweis.

1. Quellung und Lösung. Für den mikrochemischen Nachweis ist unter anderem die Eigentümlichkeit zu beachten, im Wasser hochgradig zu quellen oder sich unter Aufquellung zu lösen. Arabisches Gummi löst sich leicht, Kirschgummi unvollständig, Traganth wenig, quillt aber ungemein stark auf. Soll eine Membran oder ein Zellinhaltskörper auf seine Gummi- oder Schleimnatur geprüft werden, so betrachte man den Schnitt zuerst in absolutem Alkohol und lasse dann erst Wasser zufließen. Gummi und Schleime quellen dann allmählich sehr stark, oft bis zum Verschwinden auf, werden aber durch Alkohol wieder gefällt. Die rasche Quellbarkeit der Schleime im Wasser ist der Beobachtung oft hinderlich. Um das Aufquellen zu verhindern und den Schleim doch in einer wässerigen Lösung beobachten zu können, hat man Bleiazetat empfohlen. Schleime, die vorher in Alkohol gehärtet werden, quellen in Bleiessig meist nicht.

2. Löslichkeit. Unlöslich in Alkohol, Äther und Schwefelkohlenstoff. In Kupferoxydammoniak oder Chloralhydrat sind sie teils löslich, teils unlöslich.

3. Orcin-Salzsäure-Reaktion. (Reihl I, Wiesner IV, 59.) Schnitte werden in 4proz. Orcinlösung gelegt, mit einem Deckgläschen bedeckt und dafür gesorgt, daß die Flüssigkeit den Schnitt eben bedeckt und nicht über den Schnittrand herausragt, dann wird konzentrierte Salzsäure hinzugefügt, bis der Raum unter dem Deckglas vollständig erfüllt ist. Verholzte Wände nehmen bei dieser Prozedur eine violette Farbe an (Holzstoffreaktion). Erwärmt man jetzt gelinde langsam über dem Drahtnetz bis zum Sieden, dann färben sich Gummi und Schleime violett oder blau. Diese wie die folgende Reaktion beruht auf der Gegenwart von Pentosanen in Gummi.

4. Farbstoffe. Mangin (I) hat die im Pflanzenreiche so verbreiteten Schleime in Zellulose-, Pektose- und Calloseschleime unterschieden und versucht, sie hauptsächlich nach ihrer Gerinnbarkeit und Färbbarkeit mit bestimmten Farbstoffen zu charakterisieren. Zu den Zelluloseschleimen rechnet er den Salepschleim, zu den Pektoseschleimen die meisten sogenannten echten Schleime (Malvaceen, Tiliaceen, Rosaceen, Abietineen, Cycadeen), die Gallertscheiden bestimmter Algen (Nostoc) usw. und zu den Calloseschleimen die aus dem Callus der Siebröhren, der Sporangiumwand der Mucorineen und der Wand der Pollenmutterzellen. Es werden von Mangin eine große Reihe von Farbstoffen zur Unterscheidung der verschiedenen Schleime empfohlen, aber ich würde es nach meinen Erfahrungen nicht wagen, auf Grund einer Färbung eine Entscheidung über die Art des Schleims zu treffen, zumal die empfohlenen Farbstoffe auch noch andere Körper färben und in ein und derselben Zelle verschiedene Schleime gemischt vorkommen können. Hingegen können gewisse Farbstoffe mit Vorteil verwendet werden, um Schleimbehälter rasch ausfindig zu machen und ihre Verteilung im Gewebe zu demonstrieren. Als ein solcher Farbstoff hat sich für viele Schleime und Gummiarten Corallin bewährt.

Man verwendet eine Lösung des Farbstoffes in konzentrierter Sodalösung. Sie muß, da sie sich zersetzt, von Zeit zu Zeit erneuert werden. Boehmersches Hämatoxylin leistet nach Nestler (I) ausgezeichnete Dienste bei der Ausfärbung der Schleimzellen der Malvaceenblätter, ebenso auch alkoholisches Methylenblau und Löffler-Blau. Hingegen konnte Walliczek (I, 226) bei Kakteen die Schleimzellen mit Hämatoxylin-Alaun oder Methylenblau nicht ausfärben. Anilinblau, Gentianaviolett und ganz besonders Rutheniumrot bewährte sich nach Boresch (I) bei der Untersuchung der Gummibehälter verschiedener Bromeliaceen. Rutheniumrot ist nach Mangin (II) ein ausgezeichnetes Reagens für die mit Zellulose verbundenen Pektinstoffe und die meisten aus diesen hervorgehenden Gummi und Schleime.

5. Kupfersulfat + Kalilauge. Viele Schleime färben sich, wenn man sie in Kupfersulfatlösung (10%) und dann in Kalilauge (10%) einlegt, himmelblau. In so behandelten Präparaten zeigt der Schleim oft auffallende Strukturen: konzentrische oder exzentrische Schichtung, Netze, Fäden und Waben. Orchideenschleimzellen geben ein gutes Versuchsmaterial ab.

Vorkommen.

Schleim und Gummi treten im Pflanzenreiche so häufig auf, daß im speziellen darauf nicht eingegangen werden kann. Es sei nur hervorgehoben, daß alle Organe der Pflanze Schleime oder Gummi bilden können. Sie können auftreten im Zellinhalt (Schleimzellen der Orchis-Knollen, Rhizom von Symphytum offic.) oder in besonderen Schleimbehältern (Molisch V), als sekundäre Wandverdickung (Samenepidermis der Cruciferen, Linum, Cydonia usw.) und infolge nachträglichen Verschleimens der Zellwand oder ganzer Gewebe. Das letztere kommt bei der profusen Gummosis der Amygdaleen, der Mimosaceen, der Astragaleen und anderer Pflanzen vor. Die Bildung des Kirschgummis, des arabischen Gummis und des Traganths beruht bekanntlich darauf, doch liefern nicht bloß die Membranen, sondern auch die Inhaltsstoffe der Zelle das Material hierzu. Neben dieser profusen Gummibildung gibt es dann auch noch eine andere, die zwar zu keiner Massenproduktion, wohl aber zu einer teilweisen oder gänzlichen Verstopfung oder Ausfüllung der Holzgefäße und benachbarter Elementarorgane im Kern- und Wundholze führt. Temme (I), Praël (I), Tschirch und Will (I) haben die fast allgemeine Verbreitung dieser Gummibildung bei den Laubbäumen und Molisch (V, 289) bei vielen krautigen Pflanzen kennen gelehrt. Dieses Gummi wurde von Temme als Wundgummi bezeichnet, weil es aller Wahrscheinlichkeit nach die Rolle eines Wundverschlusses spielt und infolge einer Verwundung auftritt.

Das Auffallende bei diesem Wundgummi ist, daß es die charakteristische Eigenschaft der Gummiarten, im Wasser aufzuquellen oder sich gar zu lösen, nicht zeigt. Es ist ferner unlöslich in Alkohol, Äther, Schwefelkohlenstoff und Kalilauge. Durch Kochen mit Salpetersäure wird es gelöst, wobei es in Oxalsäure und Schleimsäure übergehen soll. Es speichert Fuchsin und gibt mit Phloroglucin und Salzsäure eine intensiv rote Färbung. Molisch (V, 290) stellte fest, daß diese Substanz nicht nur die erwähnte Holzstoffreaktion gibt, sondern noch andere, denn sie wird mit Anilinsulfat und mit Metadiamidobenzol intensiv gelb, mit Orcin und Salzsäure blauviolett und mit Thymol-Salzsäure-Kaliumchlorat grünblau. Höchstwahrscheinlich deshalb, weil diejenigen Stoffe, die im Holze die Holzstoffreaktionen geben, auch im Wundgummi vorkommen. Der Umstand, daß das Wundgummi im Wasser weder quillt noch sich löst, und die Erwägung, daß die von Temme behauptete

Überführung in Schleim- und Oxalsäure mit reiner Substanz nicht durchführbar ist, läßt es derzeit zweifelhaft erscheinen, ob man es wirklich im „Wundgummi" — ich meine den nicht quellbaren Inhaltsstoff — mit Gummi zu tun hat, und erfordert neue Untersuchungen.

Reich an Membranschleimen sind auch viele Algen. In Fucoideen wurden Fucoidin, Algin und Fucin nachgewiesen. Das Fucin ist ein Bestandteil der Interzellularsubstanz und färbt sich mit Jodjodkaliumlösung und verdünnter Schwefelsäure blau (Wisselingh I, Kylin I).

6. Pektinstoffe.

In der Zellwand finden sich häufig Stoffe von gallertiger oder schleimiger Konsistenz vor oder solche, die leicht in derartige Stoffe übergehen. Auch im Zellinhalt besonders reifer Früchte können solche Substanzen gelöst vorkommen, die beim Erkalten oder durch Alkohol als Gallerte gefällt werden. Man nennt sie Pektinstoffe.

Das Apfel-, Birnen- und Quittengelee besteht großenteils aus diesen Stoffen. Ihre Chemie liegt noch sehr im Argen. Sie scheinen den Gummiarten nahezustehen, denn beide besitzen Pentosannatur. Die meisten Pektinstoffe liefern bei der Hydrolyse Pentosen, fast regelmäßig Arabinose, außerdem Hexosen, z. B. Galaktose und Säuren. Sie haben eine den Kohlehydraten ähnliche Zusammensetzung, doch scheint der Sauerstoffgehalt etwas höher zu sein. Verbindungen der Pektine mit Kalk heißen Pektosen. Auch diese kommen in der Zellhaut vor.

Nachweis.

Ein mikrochemisches eindeutiges Reagens auf Pektine ist derzeit leider nicht bekannt. Man ist vornehmlich auf Löslichkeit und Färbbarkeit angewiesen. Um den mikrochemischen Nachweis der Pektine hat sich besonders Mangin (III) Verdienste erworben; seinen Untersuchungen ist folgendes zu entnehmen. Die junge Zellwand und die durch Inkrustation nicht veränderte besteht nicht aus reiner Zellulose, sondern erscheint stets von Pektinen begleitet, die sich von ihr wesentlich durch ihr Verhalten gegenüber gewissen Farbstoffen, durch ihre optischen Eigenschaften und die große Veränderlichkeit unter dem Einflusse von Säuren und Basen unterscheiden.

Die Zellulose wird gefärbt durch die färbenden Säuren der Azofarbstoffe, umfassend einerseits die Farbstoffe der Benzidinreihe, die sich mit der Zellulose in einem alkalischen Bade verbinden (Kongo, Benzopurpurin, Deltapurpurin, Benzoazurin usw.), andererseits die tetrazoischen Farbstoffe wie Orseilline BB, Naphtholschwarz usw., die die Zellulose im sauren Bad färben.

Die Pektine verhalten sich diesen Farbstoffen gegenüber indifferent, färben sich aber mit den meisten basischen Farbstoffen der verschiedensten Gruppen: Safranin, Methylenblau, Naphtylenblau R., Säuregrün J.EEE, Neutralrot usw. Safranin färbt die plasmatischen Stoffe, die verholzten und verkorkten Häute kirschrot, die Pektinstoffe aber orangegelb. Methylenblau und bleu de nuit färbt die Pektine blauviolett, die anderen Bestandteile der Zelle rein blau. Durch verdünnte Säuren, wie Essigsäure oder Milchsäure, werden die so ge-

färbten Pektinkörper sofort ganz entfärbt, im Gegensatz zu Plasma und verholzten Membranen. Besonders empfohlen wurden zur Doppelfärbung Naphtylenblau R und Säuregrün J. EEE (Poirier) in einer Lösung von 100 g Wasser und je 1 g der genannten Farbstoffe. Plasma, verholzte und verkorkte Wände werden damit grün, Pektinstoffe aber violett. Mangin bringt die Objekte entweder direkt in die Farbstofflösungen oder erst nach längerer Behandlung mit Eau de Javelle und nachherigem Auswaschen in destilliertem Wasser und 15proz. Essigsäure.

Ungemein wertvoll für den Pektinnachweis ist nach Mangin (II) das ammoniakalische Rutheniumsesquichlorid. Es ist in Wasser, konzentrierter Chlorcalcium- und Alaunlösung löslich. Die wässerige Lösung ($^1/_{5000}$ bis $^1/_{10000}$) muß im Finstern aufbewahrt werden. Der Farbstoff reagiert nicht auf Zellulose und Callose, aber stark auf Pektinstoffe und auf die daraus abstammenden Gummiarten und Schleime. Demgegenüber betont mit Recht Tobler (I), daß die Verwertung des Rutheniumrots als Reagens für Pektinstoffe keine einwandfreie ist, da auch andere Stoffe, wie Glykogen und Isolichenin, den Farbstoff stark speichern.

Die Pektinverbindungen sind vollkommen löslich in Alkalien, sowohl nach Behandlung mit Säuren als auch nach kalter Mazeration mit Alkalien. Zellulose bleibt unter diesen Verhältnissen ganz oder fast ungelöst. Die Pektinsubstanzen sind isotrop, die Zellulose anisotrop, Pektinstoffe lösen sich in Cuoxam nur nach vorheriger Einwirkung kalter Säuren, Zellulose direkt.

Von den in der Membran auftretenden Pektinverbindungen verdienen besondere Beachtung die Pektose und die Pektinsäure.

Die Pektose tritt nach Mangin mit Zellulose innig vereint auf in den jungen Geweben, den Zellen der Vegetationsspitze und der Folgemeristeme, in den weichen Geweben, in Phloem, Kollenchym, Epidermis. Sie fehlt auch nicht in den meisten verholzten, verkorkten und kutinisierten Geweben. Durch Cuoxam wird sie in Pektinsäure übergeführt.

Die Pektinsäure soll sich hauptsächlich als unlösliches Pektat, gewöhnlich als Calciumpektat in weichen, alten Geweben finden. Hier bildet sie die Mittellamelle oder Interzellularsubstanz und auch die dünne Haut, die die Interzellularräume auskleidet. Devaux (I) bestreitet die Zusammensetzung der Mittellamelle aus Calciumpektat, ebenso O. Richter (I, 394). Es ist nicht unwahrscheinlich, daß die Mittellamelle nicht immer dieselbe Zusammensetzung hat, und so wären beide Ansichten möglich.

Bei vielen Früchten macht die Interzellularsubstanz, wie Tschirch (II) gezeigt hat, eine Metamorphose, die Pektinmetamorphose, durch, d. h. sie verdickt sich und wird in heißer Zuckerlösung löslich. Werden Schnitte durch die reifen oder nahezu reifen Früchte mit 35 bis 65proz. Rohrzuckerlösung gekocht, so löst sich nur das Pektin, der noch unveränderte Teil der Interzellularsubstanz und die sekundären Membranen bleiben ungelöst. Beim Erkalten gesteht die Lösung zu einer Gallerte, die als hyaline Masse den ganzen Raum zwischen den Zellen ausfüllt.

Die Pektinsubstanzen spielen bei der Verkittung der Zellen sicherlich eine bedeutsame Rolle, die Rolle eines Zements oder Mörtels, und

bei der natürlichen oder künstlichen Isolierung der Zellen wird es sich wohl oft um die Lösung dieser Kittsubstanzen handeln.

Die Membran der Diatomeen. Nach Mangin (IV) enthalten die Diatomeenschalen als organischen Bestandteil nur Pektinstoffe, sie sind also frei von Zellulose und Callose. Kieselsäure und Pektin sind hier aufs innigste miteinander verbunden; sie beide bilden die gröberen und feineren Skulpturierungen der Schalen, daher denn auch das organische, von Kieselsäure befreite Membranskelett das Relief der Wand gleichfalls auf das genaueste erkennen läßt. Überdies kommt nach Mangin noch eine freie Pektinmasse vor, die die Schale nicht bloß durchdringt, sondern auf der Oberfläche einen Überzug bildet.

Die Schalen der Diatomeen verhalten sich den Farbstoffen gegenüber, die die Zellulose und Callose färben, indifferent. Anders aber gegenüber den Pektin anzeigenden Farbstoffen. Allerdings färben sich die Diatomeen direkt damit nicht, wohl aber nach folgender Behandlung: Sie werden zunächst in 50proz. Salzsäure, der chlorsaures Kali zugesetzt wurde, 24 Stunden mazeriert, in absolutem Alkohol und alkoholischer Kalilauge (potasse) von Sirupdicke eingelegt, mit gewöhnlichem, absolutem Alkohol gewaschen und dann in 3proz. Borsäurelösung überführt. So behandelte Diatomeenschalen färben sich mit Rutheniumrot intensiv. Daraus schließt Mangin auf Pektin. Die Diagnose ist also im wesentlichen auf eine Farbstoffaufnahme aufgebaut, und da wird man sich eines gewissen Zweifels nicht erwehren können, bevor nicht noch weiteres Beweismaterial herbeigeschafft wird.

7. Callose.

Die Siebplatten der Siebröhren werden häufig von einer eigenartigen, ziemlich stark lichtbrechenden Masse überlagert, die von Hanstein als Callus bezeichnet wurde. Sie stimmt chemisch weder mit Zellulose noch mit Pektin überein und erhielt durch Mangin den Namen Callose. Callose ist amorph, farblos, unlöslich in kaltem Wasser, Alkohol und Kupferoxydammoniak, auch nach vorhergehender Behandlung. Säuren, konzentrierte Schwefelsäure, Chlorcalcium-, Zinnchloridlösung, Kali-, Natronlauge (1%) lösen leicht. Alkalikarbonate und Ammoniak machen Callose in der Kälte aufquellen und gelatinös, ohne zu lösen.

Mangin unterscheidet zwei physikalische Modifikationen der Callose. Die eine zeigt direkt die für die Callose charakteristischen Färbungen und Reaktionen, die andere erst nach vorheriger Behandlung mit kaustischen Alkalien oder Oxydationsmitteln oder mit beiden.

Er geht beim Nachweis geringer Callosemengen so vor: Das Objekt, z. B. ein Blatt, wird in einige Zentimeter breite Stücke zerschnitten, zur Verdrängung der Luft in Alkohol wenige Minuten gekocht, in gewöhnliche Salpetersäure für einige Zeit übertragen, mit Wasser gewaschen, wieder zur Verdrängung der Luft mit Alkohol behandelt, zur Lösung der Xanthoproteïnsäure und ihrer Derivate in Ammoniak eingelegt und dieses zwei- bis dreimal erneuert, bis das Gewebe farblos und durchsichtig geworden ist. Nun wird das Gewebe mit 3proz. Essigsäure neutralisiert und schließlich in ein Gemisch von einem löslichen Blau (bleu coton, Baumwollblau, bleu papier, bleu

soluble à l'eau oder bleu marin) und Orseillin BB oder brun vésuvien acide gebracht. Die aus Callose bestehenden Membranen nehmen dann eine schön himmelblaue Färbung an, die von der rosafarbenen oder braunen Umgebung scharf absticht. Sehr gut bewährte sich Anilinblau, Nicholsonblau 6 B, Brillantblau, Alkalischblau, besonders gemischt mit Bismarckbraun (Vesuvin). Es empfiehlt sich dieses Farbstoffgemisch in saurem Bade, etwa in 3proz. Essigsäure oder Ameisensäure, zu verwenden. Die Kutikula und stickstoffhaltige Substanzen färben sich damit braun, Callose leuchtend grünblau. Da Salpetersäure und Ammoniak etwas Callose lösen können, ist es gut, zur Kontrolle auch ohne vorhergehende Behandlung direkt zu färben.

Vorkommen.

Besonders massig ausgebildet erscheint die Callose im Callus der Siebröhren (Fig. 108) und in den Pollenschläuchen (Fig. 109). In den Siebröhren tritt sie

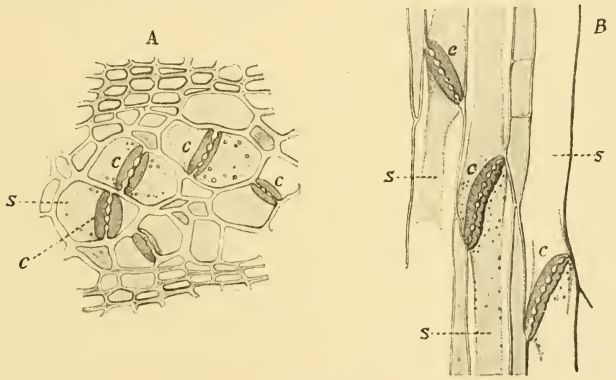


Fig. 108.
Vitis vinifera. *A* Querschnitt durch den Bast. *s* Siebröhren. *c* Callus der Siebplatte. *B* Längsschnitt durch den Bast. 3 Siebröhren. Bezeichnung wie bei *A*. Vergr. 280.

auf, wenn die Saftleitung im Innern der Siebröhren gehemmt werden soll, in den Pollenschläuchen, um das Rückströmen des Plasmas zu den alten Teilen des Pollenschlauchs zu verhindern. Die Callose kommt nach Mangin auch vor: in den Cystolithen neben Zellulose und Pektinstoffen, in verschiedenen anderen, mit kohlensaurem Kalk inkrustierten Membranen, so z. B. in verkalkten Haaren, wo sie das Lumen teilweise oder ganz ausfüllt, in der Fruchtschale von Myosotis, Cynoglossum, Pulmonaria, Lithospermum, Symphytum, in der Membran der Pollenmutterzellen und in der Nähe von Wundkork. Ferner nach Mirande (I) in der Membran von Caulerpa.

Es sei ausdrücklich betont, daß die Callose noch niemals makrochemisch gewonnen wurde und vorläufig noch eine ganz hypothetische Substanz darstellt. Daher ist bei der Diagnose große Vorsicht geboten, um so mehr, als ja Mangin

auf Grund seiner Callose-Farbstoffreaktionen auch Callose weit verbreitet in Pilzmembranen angenommen hat, während wir doch heute wissen, daß es sich hier zumeist gar nicht um Callose, sondern um Chitin handelt. — Die Angabe von Moore (I), wonach der Callus von Cucurbitasiebröhren aus Eiweißstoffen bestehe, bedarf der Nachprüfung, denn für den Vitis vinifera-Callus kann ich sie nicht bestätigen. Ich konnte keine Eiweißreaktionen erzielen.

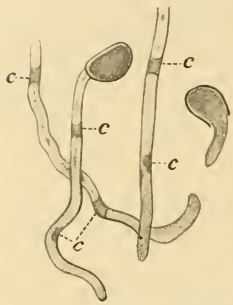


Fig. 109.
Galanthus nivalis. Pollenschläuche mit Callosepfropfen *c*, kultiviert in Zuckerlösung (10proz.). Vergr. 180.

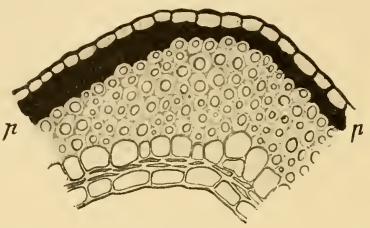


Fig. 110.
Phytomelan im Perikarp (Querschnitt) von Bidens pilosa. Die schwarze, kohlige Masse *p* unter der Oberhaut besteht aus Phytomelan. Vergr. 180.

8. Phytomelane.

Durch die umfassenden Untersuchungen von Hanausek (I—IV) wurde die Aufmerksamkeit auf eine eigenartige, ungemein kohlenstoffreiche Substanz gelenkt, die sich im Perikarp oder im Hüll- und Spreublatt vieler Kompositen vorfindet. Zwar wurde diese „kohlige" Substanz schon von anderen Forschern (C. Hartwich, Pfister, Tschirch, Gerdts) erwähnt, aber erst Hanausek blieb es vorbehalten, ihre weite Verbreitung im Bereiche der Kompositen und ihre Entwicklung darzutun und die Chemiker dafür zu interessieren. Die tiefbraune oder schwarze Masse entsteht aus der Mittellamelle; sie tritt immer an der Außenseite des mechanischen Gewebeteils der Fruchtwand, der Bastzellbündel und Steinzellen auf, wo sie den Raum zwischen diesen und dem Parenchym oder der Oberhaut ausfüllt (Fig. 110) In der Längsansicht gewährt sie das Bild eines von anastomosierenden Strängen geformten Netzes (Fig. 111).

Merkwürdig ist die ganz außerordentliche Widerstandsfähigkeit der schwarzen Masse gegen lösende und zersetzende Mittel. Abgesehen von heißer Kalilauge und der Chrom-Schwefelsäure (vgl. p. 20), die nur sehr wenig angreifen, und von Jodwasserstoffsäure, ruft kein anderes Reagens eine Veränderung hervor. Nur bei der Verbrennung wird sie zerstört. Man kann sie leicht isolieren, wenn man die Kompositenfrüchte in Chrom-Schwefelsäure legt. Hier wird alles Organische zerstört, und nur die kohlige Masse bleibt in einer für jede Gattung charakteristischen Form (Netze, Platten usw.) zurück (Fig. 111).

Dafert und Miklauz (I) haben im Anschluß an Hanauseks mikrochemische Untersuchungen die schwarze Masse makrochemisch

geprüft und fanden, daß diese den Kompositenfrüchten eigentümlichen dunklen Substanzen, die sie Phytomelane nennen, komplizierte, stickstofffreie organische Verbindungen darstellen, Wasserstoff und Sauerstoff sehr annähernd in gleichem Atomverhältnis wie Kohlehydrate enthalten, aber viel kohlenstoffreicher als diese sind. Der Kohlenstoffgehalt schwankt bei verschiedenen Gattungen zwischen etwa 69—76 %. Jodwasserstoffsäure ist das einzige Reagens, das Phytomelane angreift. Es führt im Einschlußrohr die Phytomelane, ohne ihre Struktur zu ändern, in grünlichgelbe bis dunkelblaue Produkte über. Die Phytomelane dürften ihre Entstehung einer regressiven Stoffmetamorphose durch Wasseraustritt nach dem Schema $x(C_6H_{10}O_2)—yH_2O$ verdanken.

Hanausek hat die Phytomelane bei 98 Kompositengattungen (Helianthus, Tagetes, Xanthium, Carthamus, Bidens usw.) festgestellt, fast immer im Perikarp. Auch Hüll- (Sphaerantus) und Spreublätter (Ammobium), ja sogar Wurzeln (Perezia, Rudbeckia pallida) können sie enthalten. Es ist möglich, daß die schwarze Farbe gewisser Flechten vielleicht mit Phytomelanen oder mit ihren Vorstufen in Beziehung stehen, z. B. die schwarzen Körperchen im Hymenium der Flechte Biatora fusca und die wie humifiziert aussehenden Membranen vieler Flechten und Pilze, sowie die Gehäuse vieler Pyrenocarpen und Discocarpen (Senft I). Hier sei auch an das schwarze Pigment erinnert, das dem Ebenholz seine schwarze Farbe verleiht. Sämtliche Elemente des Kernholzes von Diospyros Ebenus sind mit einem dunkelgefärbten Inhalt erfüllt, der ursprünglich Gummi ist und dann in eine gegen Reagentien ungemein widerstandsfähige Masse umgewandelt wird („Wundgummi"). Molisch (VI) hat seinerzeit zu zeigen versucht, daß das Gummi später einen Humifikationsprozeß durchmache und infolgedessen die schwarze Farbe annehme. Bělohoubek (I), dem Molischs Arbeit entgangen war, verstieg sich sogar zu der Behauptung, daß hier Kohle vorliege. Praël (I, 71), Tschirch und Will (I) meinen, daß es sich hier weder um einen Humifikations- noch um einen Karbonisationsprozeß handle, eine Aufklärung über die Natur des schwarzen Farbstoffs geben sie aber, wie auch Hanausek (III) richtig hervorhebt, nicht.

Fig. 111.
Phytomelanschichte aus dem Perikarp von Xanthium spinosum, isoliert durch Chromsäure. Tangentialansicht. Vergr. 180.

Jetzt, da wir in den Phytomelanen einen kohlenstoffreichen Körper kennen gelernt haben, wäre eine Untersuchung des schwarzen Ebenholzfarbstoffes von neuem erwünscht, insbesondere nach der Richtung, ob in dem schwarzen Farbstoff nicht doch ein sehr kohlenstoffreicher Körper vorliegt. Ein Phytomelan ist der Inhaltskörper des Ebenholzes nach Dafert und Miklauz (I, 147) nicht, da er in Chromschwefelsäure vollständig gelöst wird. Es ist aber die Frage, ob man bei diesen

Untersuchungen zwischen dem „Wundgummi", d. h. der Grundmasse des Inhaltsstoffes in den Gefäßen und anderen Elementen des Ebenholzes und dem darin eingebetteten schwarzen Farbstoff unterschieden hat. Man wird den Farbstoff für sich untersuchen müssen, wenn man über seine Natur wird ins Klare kommen wollen.

Literatur

zu p. 335 bis 360.

Ambronn, H., I. Über das optische Verhalten der Kutikula und der verkorkten Membranen. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1888, Bd. VI, p. 226.)

Bary, de, I. Morphologie und Physiologie der Pilze, Flechten und Myxomyceten. Leipzig 1866, p. 7.

—, II. Vergl. Morphologie und Biologie der Pilze usw. Leipzig 1884, p. 14.

Bělohoubek, A., I. Über Ebenholz und dessen Farbstoff. (Sitzungsber. d. Böhm. Ges. d. Wiss. zu Prag, 6. Juli 1883.)

Boresch, K., I. Über Gummifluß bei Bromeliaceen usw. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1908, Bd. CXVII, p. 1061.)

Brunswik, H., I. Über die Mikrochemie der Chitosanverbindungen. (Biochem. Ztschr. 1921, Bd. CXIII, p. 111.)

Burgerstein, A., I. Untersuchungen über das Vorkommen und die Entstehung des Holzstoffs in den Geweben der Pflanzen. (Ebenda 1874, Bd. LXX, Abt. I, Juliheft.)

Casparis, P., I. Beiträge zur Kenntnis verholzter Zellmembranen. (Pharm. Monatshefte. Beibl. z. Pharm. Post [Wien] 1920, I. Jg., p. 121.)

Chevreul, I. Sur le moyen d'analyser plusieurs matières végétales et le liège en particulier. (Ann. d. Chim. 1815, T. XCVI, p. 141.)

Correns, C. E., I. Zur Anatomie und Entwicklungsgeschichte der extranuptialen Nektarien von Dioscorea. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1888, Bd. XCVII, Abt. I, p. 658.)

—, II. Über die Membran von Caulerpa. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1894, Bd. XII, p. 355.)

Crié, I. Comptes rendus 1879, T. LXXXVIII, p. 759, 985.

Czapek, F., I. Biochemie der Pflanzen. Jena 1913, Bd. I.

—, II. Über die sogenannten Ligninreaktionen des Holzes. (Ztschr. f. physiol. Chemie 1899, Bd. XXVII.)

Dafert, F. W. und Miklauz, R., I. Untersuchungen über die kohleähnliche Masse der Kompositen. (Denkschr. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1911, Bd. LXXXVII, p. 143.)

Devaux, H., I. Réact. color. d. subst. pect. etc. (Linn. soc. Bordeaux 1901.)

—, II. Pectose des par. cell. etc. (Ebenda 1903. Zitiert nach O. Richter, Die Fortschritte etc. p. 403.)

Dischendorfer, O., I. Über die Bläuung in Pflanzenaschen durch Chlorzinkjod. (Ztschr. f. wiss. Mikr. 1921, Bd. XXXVIII, p. 138.)

Geneau de Lamarlière, I. Recherches sur quelques réactions des membranes lignifiées. (Rev. gén. d. Bot. 1903, T. V, p. 149.)

—, II. Sur la présence dans certaines membranes cellulaires d'une substance a réactions aldéhydiques. (Bull. soc. bot. France 1903, p. 268.)

Gertz, O., I Über die Verwendung von Anthocyanfarbstoffen für mikrochemische Zwecke. (Ztschr. f. wiss. Mikroskopie 1916, Bd. XXXIII, p. 7.)

Gilson, E., I. La cristallisation de la cellulose et la composition chimique de la membrane cellulaire végétale. (La Cellule 1893, T. IX, fasc. 2, p. 337—441. Ref.: Ztschr. f. Mikroskopie 1893, Bd. X, p. 401.)

—, II. La subérine et les cellules du liège. (La Cellule etc. p. p. Carnoy 1890, T. VI, p. 63.)

Giltay, E., I. Über das Verhalten von Hämatoxylin gegen Pflanzenmembranen. (Sitzungsber. d. K. Akad. d. Wiss. Amsterdam 1883, v. 27. Okt., p. 33.)

Gjokič, G., I. Über die chemische Beschaffenheit der Zellhäute bei den Moosen. (Österr. bot. Ztschr. 1895, Nr. 9.)

Grafe, V., I. Gummisubstanzen, Hemizellulosen, Pflanzenschleime, Pektinstoffe, Huminsubstanzen. (Abderhaltens Biochem. Handlex. 1911, Bd. II, p. 1.)

—, II. Untersuchungen über die Holzsubstanz vom chemisch-physiologischen Standpunkte. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1904, Bd. CXIII.)

Hanausek, T. F., I. Zur Entwicklungsgeschichte des Perikarps von Helianthus annuus. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1902, Bd. XX, p. 450.)

—, II. Neue Mitteilungen über die sogenannte Kohleschicht der Kompositen. (In Wiesners Festschr. Wien 1908, p. 139.)

—, III. Die „Kohleschicht" im Perikarp der Kompositen. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1907, Bd. CXVI, p. 3.)

—, IV. Untersuchungen über die kohleähnliche Masse der Kompositen. (Denkschr. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1911, Bd. LXXXVII, p. 94.)

Hansteen Cranner, B., I. Zur Biochemie u. Physiologie der Grenzschichten lebender Pflanzenzellen. (Meldinger fra Norges Landbrukshoiskole 1922, p. 1.)

Hegler, R., I. Untersuchungen über die Organisation der Phykochromaceenzelle. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1901, Bd. XXXVI, p. 279.)

—, II. Histochemische Untersuchungen verholzter Membranen. (Flora 1890.)

Heinricher, E., I. Zur Biologie der Gattung Impatiens. (Flora 1888, Jg. 71, p. 163.)

Höhnel, F. v., I. Histochemische Untersuchungen über d. Xylophilin u. d. Coniferin. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1877, Bd. LXXVI, p. 663.)

—, II. Über den Kork und verkorkte Gewebe überhaupt. (Ebenda 76.)

—, III. Einige Bemerkungen über die Kutikula. (Österr. bot. Ztschr. 1878, p. 81.)

Ihl, A., I. Über neue empfindliche Holzstoff- und Zellulose-Reagentien. (Bot. Zbl. 1885, p. 266. Ref.: Ztschr. f. Mikroskopie, Bd. II, p. 259.)

—, II. Chemiker-Ztg. 1885, p. 266.

Klason, I., Beitr. zur Kenntnis der chemischen Zusammensetzung des Fichtenholzes. (Schrift. d. Ver. d. Zellstoff- und Papierchem. Heft 2. Berlin 1911.)

Klebs, G., I. Beiträge zur Physiologie der Pflanzenzelle. (Unters. d. Tübinger Instit. 1888, p. 489.)

Klein, G., I. Zur Chemie der Zellhaut der Cyanophyceen. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1915, Abt. I, Bd. CXXIV, p. 529.)

Kohl, G., I. Über die Organisation und Physiol. der Cyanophyceenzelle usw. Jena 1903.

Kroemer, K., I. Wurzelhaut, Hypodermis und Endodermis der Angiospermenwurzel. (Sep. Bibliotheka Botanica 1903, Heft 59, p. 20.)

Kügler, K., I. Über das Suberin. (Diss. Straßburg 1884. Ferner Archiv f. Pharm. 1884, Bd. CCXXII, p. 217.)

Kylin, H., I. Untersuchungen über die Biochemie der Meeresalgen. (Ztschr. f. physiol. Chemie, Bd. XCIV, p. 404.)

Linsbauer, K., I. Zur Verbreitung d. Lignins bei Gefäßkryptogamen. (Österr. bot. Zeitschr. 1899, Nr. 9.)

Mäule, C., I. Das Verhalten verholzter Membranen gegen Kaliumpermanganat, eine Holzreaktion neuer Art. Stuttgart 1901.

Mangin, L., I. Bull. d. la Soc. Bot. d. France 1894. T. XLI.

—, II Sur l'emploi du rouge de ruthénium en anatomie végétale. (Comptes rend. 1893, T. CXVI, p. 653.)

—, III. Propriétés et réactions des composés pectiques. (Journ. d. Bot. 1891 (V), 1892 (VI), 1893 (VII). Ref.: Justs Bot. Jahresber. 1893, Jahrg. 21, p. 528.)

—, IV. Observations sur les Diatomées. (Ann. d. scienc. nat. Bot. 1908, sér. 9, T. VIII, p. 177.)

—, V. Observations sur la membrane cellulosique. (Comptes rend. 1891, T. CXIII, p. 1069.)

—, VI. Observations sur la présence de la callose chez les Phanérogames. (Bull. d. la Soc. Bot. d. France 1892, p. 260. Ref.: Zeitschr. f. Mikroskopie 1894, Bd. XI, p. 129.)

Mattirolo, O., I. Skatol e Carbazol, due nuovi reagenti per le membrane liquificate. (Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie. Bd. II, p. 354.)

Mirande, R., I. Recherches sur la composition chimique de la membrane et le morcellement du thalle chez les Siphonales. (Annal. d. scienc. nat., 9. sér. Paris 1913, T. XVIII, p. 163 u. 174.

Molisch, H., I. Ein neues Coniferinreagens. (Ber. d. deutsch. bot. Ges. 1886, p. 301.)

—, II. Ein neues Holzstoffreagens. (Sitzungsber. d. k. k. zool. bot. Ges. Wien 1887, Bd. XXXVII.)

—, III. Über Wurzelausscheidungen und deren Einwirkung auf org. Substanzen. (Sitzung d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1887, p. 107.)

—, IV. Kollenchymatische Korke. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1889, Bd. VII, p. 364.)

—, V. Studien über den Milchsaft und Schleimsaft der Pflanzen. Jena 1901, p. 83.

—, VI. Zur Kenntnis d. Thyllen, nebst Beobachtungen über Wundheilung. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1888. Bd. XCVII, p. 264.)

—, VII. Vergl. Anatomie des Holzes der Ebenaceen und ihrer Verwandten. (Ebenda 1879, Bd. LXXX, Juli.)

—, VIII. Beitr. z. Mikroch. Nr. 14. Über die Bläuung von Pflanzenaschen durch Chlorzinkjod. (Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. 1920.)

Moore, I. Journ. Linn. Soc. 1891, A. 27, p. 501.

Nadelmann, H., I. Über die Schleimendosperme der Leguminosen. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1890, Bd. XXI, p. 609.)

Nestler, A., I. Die Schleimzellen der Laubblätter der Malvaceen. (Österr. bot. Zeitschr. 1898, Jahrg. 48, p. 94.)

Nickel, E., I. Die Farbenreaktionen d. Kohlenstoffverbindungen. Berlin 1890, p. 59.

Niggl, M., I. Das Indol, ein Reagens auf verholzte Membranen. (Flora 1881, p. 545.)

Nowopoprowsky, J., I. Über die Chlorzinkjodreaktion der Zellulose. (Beih. z. bot. Zbl. 1912, Bd. XXVIII, Abt. I, p. 90.)

Plaut, M., I. Über die Veränderungen im anatomischen Bau der Wurzel während des Winters. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1910, Bd. XLVIII.)

—, II. Mit Fettfarbstoffen gefärbte Terpentinkitte sowie über die Verwendung von Gelbglyzerin als Holz- und Korkreagens. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1915, Bd. XXXIII, p. 133.)

Praël, E., I. Vergl. Untersuchungen über Schutz und Kernholz der Laubbäume. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1888, Bd. XIX, p. 1.)

Pristley, J. H., I. Suberin and Cutin. (New Phytologist 1921, Vol. XX, p. 17—29.)

Reichl, C., I. Zeitschr. f. anal. Chem. 1880, Bd. XIX, p. 537; Dinglers Polytechn. Journ. Bd. CCXXXV, p. 232.
Reiss, I. Über die Natur der Reservezellulose usw. (Landw. Jahrb. 1889, Bd. XVIII, p. 711.)
Richter, K., I. Beitr. zur genaueren Kenntnis der chemischen Beschaffenheit der Zellmembranen bei den Pilzen. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1881, Bd. LXXXIII, p. 494.)
Richter, O., I. Die Fortschritte der botanischen Mikrochemie usw. (Zeitschr. f. Mikroskopie 1905, Bd. XXII.)
Rumpf, G., I. Rhizodermis, Hypodermis und Endodermis der Farnwurzel. (Diss. Marburg 1904, p. 13; Bibliotheca botanica, 62. Heft.)
Schellenberg, H. C., I. Über Hemizellulosen als Reservestoffe bei unseren Waldbäumen. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1905, Bd. XXIII, p. 36.)
—, II. Beitr. z. Kenntn. d. verholzten Zellmembran. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1896. Bd. XXIX, p. 237.)
Schmidt, M. v., I. Zur Kenntnis der Korksubstanz. III. Mitteil. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien, Jahrg. 1910, Bd. CXIX, Abt. IIb, p. 241.)
Schneider, H., I. Benzidin als Reagens auf Verholzung. Ztschr. f. wiss. Mikroskopie. Bd. XXXI, Hg. 1914, p. 68.)
Schulze, E., I. Über die stickstofffreien Reservestoffe einiger Leguminosen. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1889, Bd. VI, p. 355.)
Senft, E., I. Über das Vorkommen der sogenannten Phytomelane u. über die humifizierten Membranen bei Kryptogamen. (Zeitschr. d. Allg. öst. Apotheker-Ver. 1913, p. 612.)
Singer, M., I. Beitr. zur näheren Kenntnis der Holzsubstanz und der verholzten Gewebe. (Akad. d. Wiss. in Wien 1882, Abt. I, Bd. LXXXV.)
Strasburger, E., I. Botanisches Praktikum. 3. Aufl., Jena 1897, p. 598.
Temme, I. Über Schutz- und Kernholz, seine Bildung und physiologische Bedeutung. (Landwirtsch. Jahrb. 1883, p. 173.)
Tiemann und Haarmann, I. Ber. d. deutsch. chem. Ges. 1874, Bd. VII, p. 608.
Tobler, F., I. Über die Brauchbarkeit von Mangins Rutheniumrot als Reagens für Pektinstoffe. (Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie usw. Jahrg. 1906, Bd. XXIII, p. 182.)
Tschirch, A., I. Angewandte Anatomie 1889, p. 180, Wien-Leipzig.
—, II. Über Pektin und Protopektin. (Ber. d. deutsch. pharm. Ges. 1907, Jahrg. 17, p. 237.)
— und Will, A., I. Über die Sekretbildung im Wund- und Kernholze. (Archiv d. Pharm. 1899, Bd. CCXXXVII, p. 369.)
Viehoever, A., I. Über den Nachweis von Chitin bei Bakterien. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges., 1912, Jahrg. 30, p. 443.)
Vouk, V., I. Zur Kenntnis der mikrochemischen Chitinreaktion. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXXIII, 1915, p. 413.)
Walliczek, H., I. Studien über die Membranschleime vegetativer Organe. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1893, Bd. XXV, p. 209.)
Wester, D. H., I. Studien über das Chitin. (Archiv d. Pharm. 1909, Bd. CCXLIII, p. 303.)
Wettstein, F. v., I. Das Vorkommen von Chitin und seine Verwertung als system.-phylogenetisches Merkmal im Pflanzenreich. Sitzungsber. d. Akad. d. Wiss. i. Wien, Abt. I, 1921.
Wheeler und Tollens, I. Ber. d. chem. Ges., Bd. XXII, p. 1046.
Wiesner, J., I. Anatomisches und Histochemisches über das Zuckerrohr. (Karstens Bot. Untersuchungen 1867, Berl., Bd. I., p. 120.)

Wiesner, J., II. Note über das Verhalten des Phloroglucins und einiger verwandter Körper zur verholzten Zellmembran. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1878, Bd. LXXVII, Abt. I, Januarheft.)
—, III. Die Rohstoffe des Pflanzenreichs. Gummiarten. 2. Aufl., Leipzig 1900, p. 48.
—, IV. Über das Gummiferment. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1885, Bd. XCII, Abt. I, p. 50 u. 59.)
Winterstein, E., I. Über das pflanzliche Amyloid. (Zeitschr. f. physiol. Chemie 1892, Bd. XVII, p. 353.)
—, II. Zur Kenntnis der Pilzzellulose. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1893, Bd. XI, S. 441.)
Wisselingh, C. v., I. Mikrochemische Untersuchungen über die Zellwände der Fungi. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1897, Bd. XXXI.)
—, II. Sur la paroi des cellules subéreuses. (Arch. Néerl. d. scienc. exactes nat. Harlem 1888, p. 253. Ref.: Just. Jahrb. 1888, Jahrg. 16, p. 689.)
—, III. Sur la lamelle subéreuse et la subérine. (Ebenda T. XXVI, p. 305. Ref.: Bot. Ztg. 1893, p. 247.)
—, IV. Sur la cuticularisation et la cutine. (Arch. Néerl. d. scienc. exactes et nat. 1895, T. XXVIII, p. 373. Ref.: Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie 1895, Bd. XII, p. 529.)
—, V. Über die Anwendung der in der organ. Chemie gebräuchlichen Reaktionen bei der phytomikrochem. Untersuchung. (Folia microbiol. Bd. III, 1915, Heft 3.)
Zacharias, E., I. Über Sekretbehälter mit verkorkten Membranen. (Bot. Ztg. 1879, Jahrg. 37, p. 617.)
Zeisel, S., I. Zur Kenntnis der Entstehung der Korksubstanz. (Journ. f. prakt. Chem. 1911, N. F. Bd. LXXXIV, p. 317; 1912, N. F., Bd. LXXXV, p. 226.)
—, II. Chemische Charakteristik und Konstitution der Gummiarten. (Wiesners Rohstoffe d. Pflanzenreichs, 2. Aufl., Leipzig 1900, Bd. I, p. 60.)
Zemplén-Selmeczbánya, I. Stickstoffhaltige Kohlehydrate. (Abderhaldens Biochem. Handlex. 1911, Bd. II, p. 527.)
Ziegenspeck, H., I. Amyloid in jugendlichen Pflanzenorganen als vermutliches Zwischenprodukt bei der Bildung von Wandkohlehydraten. Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1919, p. 273.
Zimmermann, A., I. Die botanische Mikrotechnik. Tübingen 1892.
—, II. Mikrochemische Reaktionen von Kork und Kutikula. (Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie 1892, Bd. IX, p. 58.)

II. Einschlüsse des Kerns, Plasmas, der Chromatophoren und des Zellsafts.

Ebenso wie die Membranstoffe aus praktischen Gründen im Zusammenhang behandelt wurden, so soll das auch bezüglich der Einschlüsse des Plasmas und des Kerns geschehen, soweit das einschlägige Material nicht schon an anderer Stelle in Betracht gezogen wurde. Von einer Schilderung der morphologischen Verhältnisse von Kern und Plasma sehe ich hier ab, da dies nicht in den Rahmen des Werkes gehört, das ja die Schilderung der Chemie bezweckt. Es wird daher auf die Fixierungs- und Färbungsmethoden in ihrer Anwendung auf Kern und Plasma nur insoweit Rücksicht genommen werden, als sie mit einem chemischen Nachweis einer Substanz zusammenhängen. — Gleichwie die Zellhaut ein sehr kompliziertes chemisches Gebilde darstellt, so auch das Plasma und der Kern. Dank der Untersuchungen von Reinke und Rodewald (I) über die Chemie des Plasmodiums von Aethalium septicum weiß man, daß das Plasma zahlreiche mineralische und organische Substanzen enthält und daß unter den letzteren die Eiweißkörper vorherrschen. Für den Kern gilt dasselbe, nur sind für ihn die Nukleïnverbindungen charakteristisch (vgl. p. 317). Der große Gehalt an Eiweiß im Kern und Plasma ist die Ursache davon, daß man häufig in der Zelle mikrochemisch Eiweißreaktionen erhält und daß das Eiweiß sogar im Kern oder im Plasma oder in beiden auskristallisieren kann.

1. Eiweißkristalle im Kern.

Es ist eine auffallende Erscheinung, daß der Zellkern gewisse Stoffe, die im Plasma häufig vorkommen, niemals führt. So hat man bisher in keinem Zellkern Stärke, Kalkoxalat, Farbstoffe oder Gerbstoffe gefunden; entgegengesetzte Angaben dürften auf unrichtigen Beobachtungen beruhen. Hingegen treten Proteïnkristalle im Kerne nicht selten auf.

a) Direkte Beobachtung. In einzelnen Fällen sind sie so groß und deutlich ausgebildet, daß man sie ohne weiteres im Mikroskop erkennen kann. Radlkofer (I) hat bereits 1858 die Eiweißkristalle im Zellkern der Lathraea Squamaria L. entdeckt und genau beschrieben. Sie können in den Schnitten aus der Mitte eben befruchteter Samenknospen beobachtet werden. Die Kristalle haben gewöhnlich die Gestalt dünner quadratischer oder rektangulärer Plättchen, die meist zu mehreren, wie die Münzen in einer Geldrolle, beisammen liegen. Nach Heinricher (I) kommen solche Zellkernkristalle nicht bloß in den zur Blütenbildung gelangenden Arten der Lathraea vor, sondern auch in allen anderen Organen (Wurzel, Haustorium usw.). Überdies auch frei

im Zellplasma, doch sind sie hier sehr klein. Ein konstantes Vorkommen von Eiweißkristallen stellte Klein (I) fest für die Kerne in den Blattepidermiszellen von Pinguicula alpina, Russow (I) für die Zellen der Blasenwand und der Borstenhaare bei Utricularia. Leitgeb (I) insbesondere für die Oberhautzellen der Perigonzipfel und Staubgefäße von Galtonia (Hyacinthus) candicans, Raciborski (II) für Albuca und Dufour (I) für die Epidermiszellen von Campanula thyrsoidea L. In den beiden letzten Fällen bilden sie Stäbchen. Bei allen diesen Pflanzen treten die Kristalle so scharf hervor, daß man sie ohne weiteres als Kristalle und auf Grund der Eiweißreaktionen (vgl. p. 314ff.) als Eiweißkristalle ansprechen kann. Häufig sind die Kriställchen aber so klein oder so unvollkommen ausgebildet, daß es besonderer Fixierungs- und

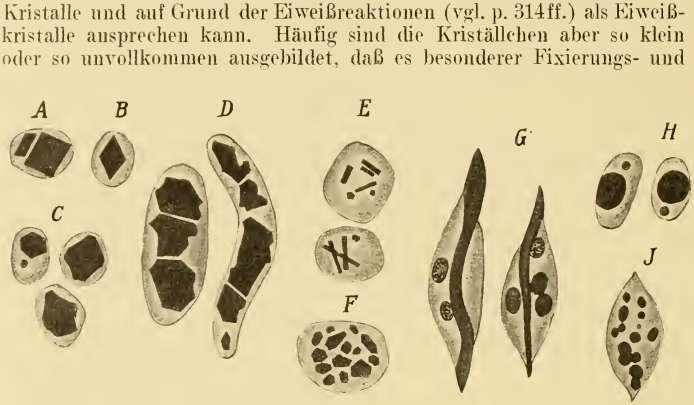


Fig. 112.

Zellkerne mit Proteïnkristalloiden. *A* aus dem Schwammparenchym von Melampyrum arvense; *B* aus der Fruchtknotenwand von Russelia juncea; *C* aus dem Palisadenparenchym von Candollea adnata; *D* aus der Fruchtknotenwandung von Alectorolophus major; *E* aus der Epidermis von Polypodium caespitosum; *F* aus der Fruchtknotenwandung von Melampyrum pratense; *G* aus der Epidermis der Fruchtknotenwandung von Campanula trachelium; *H* aus der Blattepidermis von Lophospermum scandens; *J* aus dem Schwammparenchym von Adiantum macrophyllum. Die Kristalloide sind überall schwarz, die Nukleolen, wo sie sichtbar sind, schraffiert. Nach Zimmermann (III, 44).

Färbungsmethoden bedarf, um die Kristalle im Zellkern sichtbar zu machen und von den oft ähnlichen Nukleolen zu unterscheiden.

b) Färbung. Um die Färbungstechnik der Zellkern-Eiweißkristalle hat sich Zimmermann (I, II, III) Verdienste erworben. Er empfiehlt hauptsächlich Säurefuchsin und eine Doppelfärbung von Hämatoxylin und Säurefuchsin und verfährt in folgender Weise (III, 45). Zunächst wird das Objekt mit konzentrierter alkoholischer Sublimatlösung fixiert. „Soll dieses mit Säurefuchsin allein gefärbt werden; so kommen die gut ausgewaschenen Schnitte zunächst in eine 0,2proz. Lösung von Säurefuchsin (oder Fuchsin S) in destilliertem Wasser, der man, um sie haltbarer zu machen, etwas Kampfer zusetzen kann. In dieser Lösung verweilen die Schnitte mindestens mehrere Stunden, am besten 24 Stunden oder auch beliebig länger. Darauf werden sie möglichst schnell im fließenden Wasser ausgewaschen,

und zwar ist die hierfür erforderliche Zeit für die verschiedenen Objekte eine sehr verschiedene und schwankt zwischen wenigen Minuten und mehreren Stunden. Sie läßt sich aber leicht durch einige Versuche feststellen. Nach dem Auswaschen werden die Präparate dann in der gewöhnlichen Weise in Canadabalsam übertragen. Diese Methode liefert sowohl bei Mikrotom- als auch Freihandschnitten eine sehr gute Färbung der Zellkernkristalloide. Dieselben sind, wenn die Zeit des Auswaschens einigermaßen richtig getroffen ist, noch intensiv gefärbt, wenn das Kerngerüst und auch die Nukleolen schon vollständig ausgewaschen sind.

Die Doppelfärbung mit Hämatoxylin und Säurefuchsin führt man zweckmäßig in der Weise aus, daß man die betreffenden Objekte vor dem Einbetten in Paraffin mit Delafieldschem Hämatoxylin durchfärbt und erst die aus denselben angefertigten Mikrotomschnitte in der oben beschriebenen Weise mit Säurefuchsin nachfärbt. Es erscheinen dann an gut gelungenen Präparaten Kerngerüst und Nukleolen violett, die Kristalloide aber rot." P. Mayerscher Hämalaun (vgl. p. 22) darf hierzu nicht benutzt werden, da er bei der Fixierung mit Sublimat nur das Kerngerüst färbt. Durch diese und andere Tinktionsmethoden ist es Zimmermann gelungen, zu zeigen, daß Zellkerneiweißkristalle viel weiter verbreitet sind, als man geglaubt hat (Fig. 112). Sie wurden bisher nach einer von Zimmermann (III, 46) herrührenden und durch mich ergänzten Zusammenstellung bei folgenden Pflanzen konstatiert:

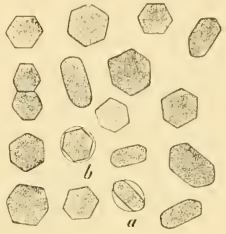


Fig. 113. Proteïnkristalloide im Milchsafte von Amorphophallus Rivieri. Bei *a* und *b* die Vakuolenhaut teilweise abgehoben. Vergr. 440.

Lineae, Linum austriacum (Zimmermann II, 126).

Halorageae, Hippuris vulgaris (Zimmermann II, 126).

Candolleaceae, Candollea adnata (Raunkjär I).

Campanulaceae, Campanula und Phyteuma spec. (Vogl I; Schenk I, 23, Anm.; Zimmermann II, 71 und 127).

Ericaceae, Pirola spec. (Raunkjär) I).

Oleaceae, Fraxinus (Schaar I), bei 8 von 9 untersuchten Arten (Zimmermann II, 128).

Gentianeae, Menyanthes und Limnanthemum (Zimmermann II, 129); Cotylanthera tenuis (Figdor I).

Convulvulaceae, Convolvulus sp. (Borzi I).

Scrophulariaceae, Lathraea (Radlkofer I), bei 21 von 25 untersuchten Arten (Zimmermann II, 130), Alectorolophus (Sperlich I).

Lentibulariaceae, Pinguicula (Klein I), Utricularia (Russow I).

Gesneriaceae, Aeschynanthus (Raunkjär I), Gloxinia (Zimmermann II, 136).

Papilionaceae, Astragalus glycyphyllos (Mrazek I, 22).

Bignoniaceae, Bignonia, Catalpa, Tecoma (Zimmermann II, 137).

Verbenaceae, Clerodendron, Verbena (Zimmermann II, 137).

Phytolaccaceae, Ladenbergia, Rivina (Zimmermann II, 137).

Urticaceae, Urtica (Kallen I).

Liliaceae, Galtonia (Leitgeb I, 113); Scilla (Huie I); Chlorophytum comosum, Agapanthus umbellatus, Allium porrum (Solla I); Ornithogalum caudatum (Strasburger I, 4. Pens.).

Pteridophyten, 16 Arten der Polypodiaceen, ferner Ceratopteris und Aneimia (Zimmermann II).

Musaceae, Musa (Molisch I, 177).

Amaryllideae, Nerine curvifolia Herb (Molisch II, 92).

Agaricaceae, (Bambeke I).

2. Eiweißkristalle und Eiweißgebilde im Plasma und Zellsaft.

Im Zellinhalt können außerhalb des Kernes gleichfalls Eiweißkristalle oder ähnliche Gebilde entweder im Plasma oder Zellsaft auftreten. Sie haben entweder regelmäßige Kristallform, wie z. B. in den Parenchymzellen knapp unter dem Hautgewebe der Kartoffelknolle, im Milchsaft von Musa-Arten, von Amorphophallus oder sie sind spindel-, faden-, ring-, nadel-, peitschenförmig wie bei Epiphyllum-Arten und anderen Pflanzen oder sie haben die Form von Körnern.

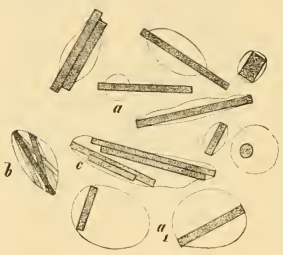


Fig. 114.
Proteïnkristalloide in Vakuolen des Milchsaftes von Musa chinensis Sweet. Bei *a* Vakuolenhaut teilweise vom Kristall abgehoben, bei a_1 ganz abgehoben, bei *b* und *c* Bündel von Kristallen. Vergr. 950.

Amorphophallus Rivieri Dur. Der etwas milchig getrübte Saft enthält unter anderem Kristalloide in mäßig großer Zahl, meist sechseckige Tafeln von großer Regelmäßigkeit. Einzeln oder zu zweien verwachsen (Molisch II, 27). Fig. 113.

Musa. Verschiedene Arten führen im Milchsaft zahlreiche, mitunter mannigfaltig geformte Kristalle, wahrscheinlich eiweißartiger Natur. Bei Musa chinensis Sweet. haben sie Stäbchen- oder Prismenform. Es ist von Interesse, daß sie nicht frei im Milchsafte liegen, sondern in Vakuolen eingebettet sind, gewöhnlich 1—2 und mehr (Fig. 114). Musa Ensete Bruce enthält ebenfalls die erwähnten Kristallvakuolen, aber neben diesen noch sonderbar geformte Proteïnkörper, die sich von den früheren, abgesehen von ihrer Gestalt, dadurch unterscheiden, daß sie von Wasser leicht alteriert werden, darin leicht aufquellen und sich dabei in kugelige oder runde, unregelmäßige, schwach lichtbrechende Gebilde verwandeln. Sie besitzen Nadel-, Spindel-, Peitschen-, Ellipsen-, Ring- oder Tennis-Racket-Gestalt und erinnern durch diese Formen vielfach an jene merkwürdigen Proteïnkörper, die ich seinerzeit in den Flachsprossen von Epiphyllum aufgefunden habe (Molisch II, 28).

Epiphyllum-Proteïnkörper. Alle untersuchten Epiphyllum-Arten zeigen stellenweise in den Epidermiszellen und den darunterliegenden Grundgewebszellen sonderbar gestaltete Eiweißkörper: Spindeln, Ringe und Fäden (Fig. 115A). Sie sind mitunter gestreift, weil fibrillär gebaut, und zeigen die Eigenschaften der Eiweißkörper und die Eiweißreaktionen (Molisch III u. IV).

Es würde zu weit führen, alle bekannt gewordenen Vorkommnisse von Plasma- und Zellsaft-Kristalloiden einzeln zu schildern; es wird genügen, sie in einer Tabelle (S. 370 und 371) übersichtlich zusammenzustellen.

Bezüglich mancher Inhaltskörper bleibt es derzeit noch fraglich, ob sie zu den Proteïnkörpern gehören oder nicht.

Beispiele:

Jatropha-Arten. Im Milchsaft von Jatropha glauca hort., J. gossypifolia L. und J. podagrica Hook kommen Kristalle in Form

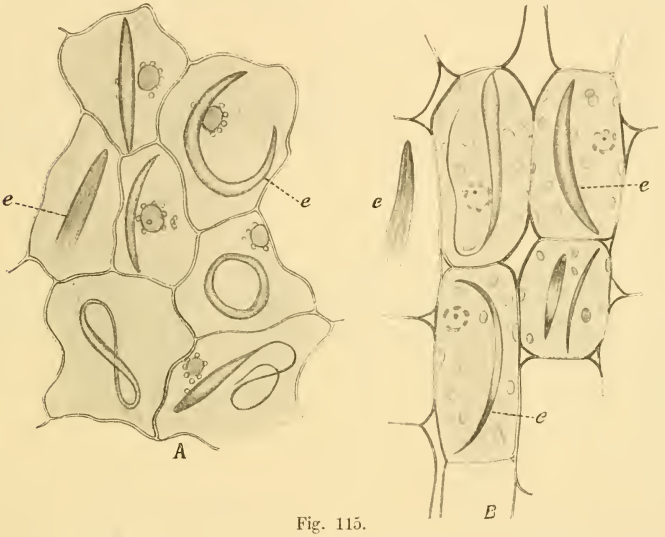


Fig. 115.

A. Eiweißgebilde *e* aus der Epidermis von Epiphyllum. Vergr. 400. (Nach Molisch III.)

B. Eiweißgebilde *e* aus dem Stamme von Opuntia monacantha. Vergr. 180. (Nach Gicklhorn I.)

quadratischer oder abgerundeter Tafeln von 3 bis 14 μ vor. Sie sind gewöhnlich einzeln oder manchmal 2 bis 3 miteinander verwachsen, nicht selten parallel zum Umfang geschichtet. Sie zeigen verschiedene, auch Eiweißkörpern zukommende Eigenschaften, doch geben sie die Eiweißreaktionen nicht oder nur undeutlich (Molisch II, 33).

Drosera und Dionaea. Gardiner (I) fand in den meisten Oberhautzellen von Drosera dichotoma und Dionaea Spindeln und Nadeln, die er mit den wohl unnötigen Namen Plastoiden und Rhabdoiden bezeichnete. Durch Alkohol, Chromsäure und Pikrinsäure werden sie fixiert, färben sich nach der Fixierung mit Hoffmannsblau, verquellen oder verschwinden in verdünntem Alkohol. Sie bestehen aus Proteïnkörpern.

Familie	Name	Organ oder Gewebe	Form	Entdecker
		Phanerogamen.		
Amarylloideae	Tecophilaea cyanocrocus	Oberhaut der Knolle	Spindeln, Ringe usw.	Wakker (II)
	Nerine undulata (L.) Herb.	Schleimsaft	Spindeln, Nadeln usw.	Molisch (II, 91)
	Nerine flexuosa Herb.	,,		
Apocyneae	Nerium Oleander L. u. Allamanda Schottii Hook.	Milchröhren	Kleine Kristalle	Molisch (II, 27)
Araceae	Pothos scandens L.	Epidermis	Tafeln	Wakker (I)
	Amorphophallus Rivieri	Milchröhren	,,	Molisch (II, 27)
Balsamineae	Impatiens-Arten, einige	Fruchtknoten Siebteil d. Stengels und Blattes	Spindeln, Ringe	Amadei (I)
Cactaceae	Epiphyllum-Arten	Laubsprosse	Spindeln, Fäden Ringe usw.	Molisch (I)
	Opuntia virens			Leitgeb, Heinricher (II)
	Opuntia, 15 Arten	hauptsächlich Rindenparenchym	Spindeln	Gicklhorn (I)
	Peireskia	Laubblatt	,,	Mikosch (II)
Campanulaceae . . .	Platycodon grandiflorum DC.	,,	rundlich	Zimmermann (II, 73)
Commelinaceae . . .	Dichorisandra ovata hort.	Schleimgefäße	Spindeln, Polyeder	Molisch (II, 93)
Coniferae	Abies pectinata Lam.	Schleimschläuche d. prim. Rinde		v. Höhnel (I)
	,, Nordmanniana Spach.	Schleimschläuche d. prim. Rinde		
Euphorbiaceae . . .	Euphorbia trigona	Rindengewebe	kugelig	Leitgeb (II, 315)
	,, grandidens	,,		
Iridaceae	Sisyrinchium Bermudianum L.		Spindeln	Dufour (I), Stock (I)
Leguminosae	7 Gattungen	Blütenteile	Spindeln, Stäbchen usw.	Baccarini (I)

	Alle untersuchten Papilionaceen	Siebröhren	Spindeln, Stäbchen usw.	Mrazek (I)
	Mimosa Speggazzini	Milchsaft der Schlauchzellen	Spindeln, Keulen, Halbmonde usw.	Molisch, Mrazek (I)
Musaceae	Musa-Arten	Milchröhren	Prismen, Spindeln usw.	Molisch (II, 28)
Nepenthaceae	Nepenthes melamphora	Rhizom	Spindeln	Heinricher (III)
Nymphaeaceae. . . .	Nuphar advena	Blatt	rundlich	Zimmermann (II, 158)
Orchideae	Trichopilia tortilis Lindl.	,,	Nadeln	Zimmermann (II, 157)
	Vanda furva	,,	spindelförmig, mehr spitzig	Zimmermann (II, 156)
	Oncidium microchilum Bat.	,	Spindeln, Ringe, Schleifen	Mikosch (I)
Passifloraceae	Passiflora coerulea L.	,,	Spindeln	Zimmermann (II, 157)
Phytolaccaceae . . .	Phytolacca abyssinica Hoff.	,,	Prismen	Kruch (I)
Rhinantaceae . . .	Lathraea Squamaria	alle Organe	sehr klein	Heinricher (I, 28)
Scrophulariaceae . .	Gratiola officinalis	Fruchtknotenwandung und Blatt-	Nadeln	Zimmermann II, 157)
Solanaceae	Solanum tuberosum	Knolle	Würfel (Schimper, I)	Baylei, Cohn (I)
	Capsicum annuum	Fruchthaut	Prismen	Nestler (I)

Kryptogamen.

Algae	Viele marine Florideen und zwei Chlorophyceen	Thallus	meist oktaederähnlich	Klein (II)
	Viele Cyanophyceen			Hegler (I, 304)
	Codiaceen			Berthold (I, 57)
	Derbesiaceen			Wakker (I, 469)
Fungi.	Pilobolus crystallinus Wigg.	Stielzellen d. Sporangiums	Würfel	Klein (III)
	Fast alle Mucorineen	Sporangiumstiele		v. Tieghem (I)
	Dimargaris crystalligena v. Tiegh.			
Filices	Polypodium ireoides Lam.	Blattepidermis	hexag. Pyramiden (Schimper I)	Kraus (I)

Wie aus den Tabellen hervorgeht, sind, abgesehen von Aleuronkörnern, Proteïnkristalloide und verwandte Gebilde im Pflanzenreiche sowohl bei Krypto- wie bei Phanerogamen ziemlich verbreitet. Sie liegen entweder direkt im Plasma oder in Vakuolen, doch ist es nicht immer zu entscheiden, ob das eine oder das andere der Fall ist.

Wer sich über die weitere Verbreitung der Kern- und Plasma-Eiweißkristalle unterrichten will, sei besonders aufmerksam gemacht auf die ausführlichen Ausführungen Meyers (VII, 46—102).

Die vorliegenden Untersuchungen sprechen dafür, daß diese Eiweißkörper, ebenso wie die gleich zu behandelnden Proteïnkörner eine in ernährungsphysiologischer Beziehung wichtige Rolle spielen, bald als Baustoff, bald als Reservestoff fungieren, je nach den Bedürfnissen der Pflanze (Molisch III, 202; Heinricher I; Stock I, 233; Sperlich I; Gicklhorn I, 13; Solla I, 123; Meyer VII, 79 u. a.).

3. Die Proteïnkörner.

a) Im Samen.

In allen reifen Samen, hauptsächlich in fettreichen, kommen körnige, dem Stärkemehl ähnliche, aber hauptsächlich aus Eiweiß bestehende Bildungen vor, die von Hartig (I) entdeckt und von ihm

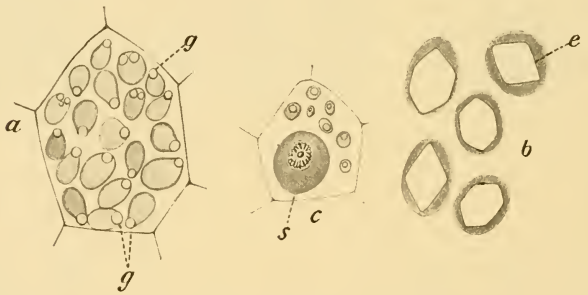


Fig. 116.
Proteïnkörner.

a) Zelle aus dem Endosperm von Ricinus communis, erfüllt mit Proteïnkörnern. Der helle Hof in denselben ist das Globoid *g*. Olivenölpräparat. Vergr. 250.
b) Einzelne Proteïnkörner derselben Zelle nach Behandlung mit Pikrinsäure und Eosin. Die Eiweißkristalle *e* treten deutlich hervor, die Globoide sind verschwunden. Vergr. 350.
c) Zelle aus dem Samen von Vitis vinifera mit einem großen Proteïnkorn (Solitär) und einigen kleineren. Das große *s* enthält eine Druse von oxalsaurem Kalk. Olivenölpräparat. Vergr. 250.

„Aleuron" oder Klebermehl, von Holle aber Proteïnkörner benannt wurden. Die grundlegende Arbeit über Proteïnkörner verdankt man Pfeffer (I).

Da die Aleuronkörner sehr häufig im Fett eingebettet sind, so wird man zur Vermeidung einer Emulsion die Untersuchung der Schnitte gewöhnlich nicht in Wasser vornehmen, sondern entweder in Flüssig-

keiten, die sich mit Fett leicht mischen (Olivenöl, Glyzerin usw.), oder man wird vorher das Fett durch eine entsprechende Vorbehandlung der Schnitte mit Alkohol, Äther oder Petroläther befreien. Im übrigen wird sich die Behandlung der Schnitte danach richten, was man in dem Proteïnkorn sehen oder deutlich machen will.

Die Proteïnkörner bestehen aus einer dünnen Membran und einer eiweißartigen Grundmasse, in der dreierlei Einschlüsse vorkommen können; a) kristallisiertes Eiweiß (Kristalloide), b) Globoide und c) allerdings selten Kristalle von Kalkoxalat (Fig. 116).

Die Membran stellt ein äußerst zartes Häutchen dar, das in verdünnten Alkalien und Säuren unlöslich ist und aus Eiweiß besteht. Bei allmählicher Auflösung der Grundmasse oder der Einschlüsse in sehr verdünnter Kalilauge, Salz- oder Essigsäure wird es sehr deutlich (Pfeffer I). Nach Lüdtke (I) auch bei Behandlung mit Kalkwasser, das die Grundmasse zuerst löst, die Membran sehr gut differenziert und später unter Aufquellung löst.

Die amorphe Grundmasse besteht aus Eiweiß, verhält sich aber bei verschiedenen Pflanzen nicht gleich (Pfeffer I, Vines I). Sie ist im Wasser unlöslich oder ganz oder teilweise löslich. Sie ist stets leicht löslich in verdünnter Kalilauge, Ammoniaklösung und konzentrierter wässeriger Natriumphosphatlösung. Es gibt Aleuronkörner, die ganz aus Grundmasse bestehen (Kotyledonen der Erbse, Bohne, Aleuronschicht der Getreidefrüchte, Mais, Weizen, Roggen, Gerste usw.).

Die Eiweißkristalloide gehören zu den gewöhnlichsten Inhaltskörpern der Proteïnkörner. Sie sind oft direkt nicht sichtbar, da sie im Lichtbrechungsvermögen mit der Grundmasse ziemlich übereinstimmen und sich daher nicht optisch differenzieren. Läßt man zu einem unter Deckglas befindlichen Schnitt, z. B. durch das Endosperm von Ricinus communis, Wasser zufließen, so treten die Kristalloide, die in Wasser stets unlöslich sind, oft deutlich hervor. Durch Behandlung mit konzentrierter wässeriger Natriumphosphatlösung können die Kristalloide gleichfalls gut sichtbar gemacht werden, weil alle anderen Bestandteile des Proteïnkorns nach längerer Zeit gelöst werden und dann nur die Kristalloide zurückbleiben. Sie gehören nach Schimper (I) teils dem regulären, teils dem hexagonalen Kristallsystem an, sind in letzterem Falle schwach doppelbrechend und geben ebenso wie die Grundmasse die auf p. 314ff. erwähnten Eiweißreaktionen.

Besser können die Kristalloide durch Fixierung und Färbung sichtbar gemacht werden (Fig. 116). Solche Methoden sind von Overton (I), Poulsen (I), Strasburger (I, 98) und von Krasser (I) ausgearbeitet worden. Krasser hat zwei Methoden (a und b) angegeben:

a) Pikrin-Eosin. Die Schnitte werden mit Pikrinsäure, gelöst in absolutem Alkohol, fixiert, mit starkem Alkohol ausgewaschen, mit alkoholischer Eosinlösung gefärbt, mit absolutem Alkohol abgetönt, durch Nelkenöl aufgehellt und in Canadabalsam eingeschlossen. Die Färbung vollzieht sich sehr rasch. In gelungenen Präparaten von Ricinus erscheint die Grundsubstanz dunkelrot, das Kristalloid gelb und scharf und das Globoid nahezu farblos bis rötlich. Das Globoid habe ich häufig in solchen Präparaten gar nicht gesehen.

b) Pikrin-Nigrosin. Nigrosin wird in einer gesättigten Lösung von Pikrinsäure in absolutem Alkohol etwa bis zur Sättigung gelöst.

Die in diese Lösung eingelegten Schnitte werden von Zeit zu Zeit in Alkohol kontrolliert. Sowie die Grundsubstanz blau erscheint, wird die Tinktion unterbrochen. Die weitere Behandlung wie vorhin.

Die Grundsubstanz ist bei gelungenen Präparaten blau, das Globoid farblos und das Kristalloid gelbgrün. Die Krasserschen Methoden haben sich besonders bei Ricinus bewährt.

Tschirch und Kritzler (I) haben die Natur des Aleuronproteïns auf Grund seines Verhaltens zu Wasser, Kochsalzlösungen verschiedener Konzentration, Magnesiumsulfat-, Ammonsulfat- und Monokaliumsulfatlösungen geprüft und gelangen zu dem Resultate, daß die untersuchten Proteïnkörner (Linum usitatissimum, Ricinus communis, Bertholletia excelsa usw.) hauptsächlich aus Globulinen bestehen, und daß sich die Kristalloide mindestens aus zwei naheverwandten Globulinen zusammensetzen. Auch die Globoide enthalten nach Tschirch und Kritzler Proteïnsubstanz in Form von Globulinen.

Die Globoide sind amorph, isotrop, meist rundlich, seltener kranz-, wurm-, biskuit- oder traubenförmig, bald zu ein, bald zwei bis mehreren vorhanden und häufig exzentrisch gelegen. In verdünnten Säuren (Essig-, Pikrin-, Salzsäure) lösen sich die Globoide, hingegen nicht in verdünnter Kalilauge, in Wasser oder Alkohol. Sie färben sich im Gegensatz zu den Kristalloiden nicht mit Jodlösung, machen in Öl betrachtet den Eindruck von Vakuolen und bestehen nach Pfeffer (I, 472) aus dem Calcium- und Magnesiumsalz einer gepaarten Phosphorsäure mit einem organischen Paarling.

Man kann sie sehr deutlich zur Anschauung bringen, wenn man Schnitte entfettet und das Eiweiß in verdünnter Kalilauge löst. Es bleiben dann die Globoide in Gestalt zahlreicher Kugeln zurück. Daß die Globoide unverbrennliche Substanz enthalten, kann man leicht erweisen, wenn man derartig behandelte Schnitte nach dem Auswaschen des Kali auf einem starken Deckglas in ein Wassertröpfchen legt und das Ganze hin- und herbewegt. Es fallen dabei einzelne Globoide aus dem Schnitte heraus und bleiben beim Eintrocknen frei auf dem Deckglas liegen. Erhitzt man über der Flamme, so schwärzen sie sich zunächst. Verbiegt sich das Deckglas, so legt man es auf ein Platinblech und erhitzt dann weiter, bis die Globoide unterm Mikroskop ganz weiß erscheinen. Mit Hilfe des Phosphorsalzes kann dann leicht Mg (vgl. p. 58) und mit den entsprechenden Reagentien auch Kalk und Phosphorsäure nachgewiesen werden.

Die Kalkoxalatkristalle sind in Aleuronkörnern nicht gerade häufig. Man kann sie mit dem Polarisationsmikroskop leicht ausfindig machen, da sie darin bei gekreuzten Nikols stark aufleuchten. Schafft man das Fett der Schnitte durch Äther weg, die Grundsubstanz und die Eiweißkristalloide durch verdünntes Kali und die Globoide durch verdünnte Essigsäure, dann bleiben die Oxalatkristalle allein übrig. Sie bilden Nadeln, Tafeln, Drusen (Vitis vinifera) usw. und liegen entweder in den Globoiden oder in der Grundsubstanz.

β) Im Milchsaft.

Molisch (I, 21) hat zuerst auch im Milchsaft zweier Moreen, der Cecropia peltata und des Brosimum microcarpum Proteïnkörper nach-

gewiesen, die sich aber insofern von den Proteïnkörnern der Samen unterscheiden, daß sie niemals Einschlüsse in Form von Eiweißkristalloiden, Globoiden oder Kalkoxalatkristallen erkennen lassen.

Cecropia peltata. Der Milchsaft dieser Pflanze enthält eine ungeheuere Menge von Proteïnkörnern, die Stärkekörnern äußerlich ähneln. Sie erscheinen kreisrund, birnen-, linsen-, spindelförmig, bikonvex, abgerundet, polygonal oder ganz unregelmäßig geformt. Analog den Stärkekörnern sind sie entweder einfach oder zwei- bis mehrfach zusammengesetzt (Fig. 117). Die großen und größten messen 6 bis 17 μ. Sie schrumpfen beim Eintrocknen bedeutend, lösen sich im Wasser ganz oder großenteils auf. Erwärmt man den Milchsaft bis zum Sieden oder behandelt man mit absolutem Alkohol, so werden sie stark lichtbrechend und sind nunmehr, weil sie koagulieren, nicht mehr im Wasser löslich. Sie sind unlöslich in absolutem Alkohol, Äther, Benzol, verdünnten Mineralsäuren und verdünnter Essigsäure. Sie lösen sich unter

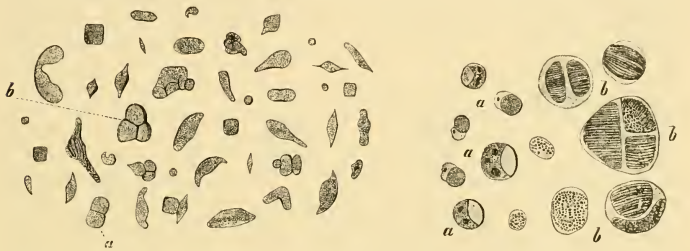


Fig. 117.

Proteïnkörner aus dem Milchsaft von Cecropia peltata L. Links *a* zweifach, *b* dreifach zusammengesetztes Korn. Vergr. etwa 360.
Rechts *a* Proteïnkörner, deren Proteïno-(Leuko-)plasten durch Wasserzufluß sich aufblähen und dadurch sichtbar werden. Der dunkle Teil entspricht dem Eiweißkorn, der hellere dem Eiweißbildner. *b* Zerfall der Proteïnkörner in Stäbchen bei langsamem Wasserzufluß. Vergr. 700.

Aufquellung in verdünnter Kalilauge, sehr verdünntem Ammoniak oder Kalkwasser, färben sich mit Anilinviolett violett, mit Jodjodkalium gelb und mit Säurefuchsin nach dem Erwärmen rot. Sie geben die Xanthoproteïnsäure-, Millonsche und Raspailsche Reaktion und müssen daher als Proteïnkörner angesprochen werden.

Brosimum microcarpum Scholl. Auch in dem Milchsaft dieser Pflanze kommen zahllose Proteïnkörner vor. Sie sind kreisrund, eirund, bikonvex, spindelförmig oder polygonal. Ebenso wie Stärkekörner erscheinen sie einfach oder zwei- bis mehrfach zusammengesetzt, sind entweder homogen — das ist der gewöhnliche Fall — oder sind von Linien durchzogen, die sich oft kreuzen. Die Größe eines einfachen Kornes schwankt zwischen Bruchteilen eines Mikron bis etwa 13 μ, die großen zusammengesetzten messen mitunter bis 20 μ. Nach ihren Eigenschaften und Reaktionen sind sie als Proteïnkörner zu bezeichnen.

Die Proteïnkörner der Samen entstehen nach Wakker (II) und Werminski (I) aus Vakuolen. Ursprünglich sind die Aleuronkörner mit Eiweiß gefüllte Vakuolen, in denen beim Austrocknen des reifenden

Samens das Eiweiß fest wird. Die Proteïnkörner der beiden Milchsäfte unterscheiden sich von den Aleuronkörnern der Samen unter anderem auch dadurch, daß sie unter Intervention von Leukoplasten (Proteïnoplasten) entstehen. Von der plasmatischen Grundlage kann man sich bei Cecropia leicht überzeugen, wenn man auf ein frisch aufgefangenes Milchsafttröpfchen Wasser langsam einwirken läßt und mikroskopisch betrachtet. Man kann dann sehen, wie sich das Eiweiß allmählich löst und der Leukoplast schließlich zurückbleibt. Häufig bläht sich der Leukoplast, bevor des Proteïnkorn gelöst ist, infolge der Wasseraufnahme auf, so daß das Korn von einem schwach lichtbrechenden Hof umgeben erscheint. Untersucht man den intakten, mit Wasser noch nicht vermischten Milchsaft, so kann man die Leukoplasten, die noch kein Proteïn gebildet haben oder erst zu bilden beginnen, leicht finden, nicht selten sogar in Teilung. Die Proteïnkörner von Cecropia erscheinen bei starker Vergrößerung homogen, selten annähernd parallel zu einem Durchmesser gestreift; es sieht so aus, als ob der Proteïnkörper eine stäbchenartige Struktur hätte. Bei Behandlung mit Wasser, verdünnter Kalilauge oder verdünntem Ammoniak tritt diese Struktur besonders scharf hervor (Fig. 117b, rechts). Innerhalb eines Leukoplasten können sich bei Cecropia ein — der gewöhnliche Fall — oder zwei bis mehrere rundliche, polygonale oder unregelmäßige Eiweißkörner ausbilden; auf die letztere Weise entstehen die zusammengesetzten Proteïnkörner (Molisch II, 21).

Fig. 118.
Stachelkugeln aus dem Zellinhalt von Nitella sp. *a* in natürlichem Zustande, *b* nach Behandlung mit Jod-jodkaliumlösung. Vergr. 350.

4. Die Stachelkugeln der Characeen.

Blickt man auf den Plasmastrom einer Internodialzelle von Nitella, so bemerkt man zahlreiche größere, kugelige Gebilde sich durch die Zelle bewegen. Es sind weißlich-graue bis graubraune Körperchen von kugeliger oder etwas elliptischer Form, im Maximum etwa 24 μ breit, häufig am Rande mit zahlreichen, dichtgedrängten, haarförmigen Fortsätzen versehen, die ihnen eine gewisse Ähnlichkeit mit bewimperten Schwärmsporen verleihen. Man hat ihnen deshalb auch den Namen „Wimperkörperchen" oder wegen ihres stacheligen Aussehens den Namen „Stachelkugeln" gegeben. Noch deutlicher kann man diese Gebilde beobachten, wenn man ein Nitella-Internodium zerschneidet und den herausstürzenden Saft direkt im Mikroskope betrachtet. Zwischen den zahllosen Chlorophyllkörnern und Zellkernen wird man unschwer auch einige Stachelkugeln finden (Fig. 118). Sie wurden bereits von Corti (1774), dem Entdecker der Plasmaströmung, gesehen, später von Göppert und Cohn (I) bei Nitella flexilis, Nägeli, von Overton (I) bei Nitella syncarpa und von Votava (I) bei zahlreichen anderen Arten genauer untersucht.

Gegen konzentrierte Säuren sind sie auffallend widerstandsfähig. Sie ändern sich in kalter konzentrierter Schwefel-, konzentrierter Salz-, Salpeter- und Essigsäure fast gar nicht, desgleichen auch nicht in kalter Natronlauge. Mit Jodjodkaliumlösung werden sie braun, mit Zucker und Schwefelsäure intensiv rot, mit 10 proz. Kaliumbichromat braunrot, mit Osmiumsäure hellbraun und mit Eisenchlorid nehmen sie „einen schwachen, nicht sehr charakteristischen, neutraltintenartigen Ton" an (Overton I, 5). Werden sie mit Ferrocyankaliumessigsäure fixiert und nach dem Auswaschen mit Eisenchlorid behandelt, so färben sie sich schön blau. Boraxkarmin färbt sie nach Fixierung mit alkoholischer Sublimatlösung noch intensiver als die Zellkerne, ähnliches leistet wässerige Fuchsinlösung. Aus diesen und einigen anderen Beobachtungen schließt Overton, daß die Stachelkugeln aus einer Eiweißgerbstoffverbindung bestehen.

Die Befunde Overtons sind von Votava (I) überprüft worden, jedoch mit anderen Ergebnissen: Nach Votava besitzen die Stachelkugeln keinen kristallinischen Bau. Sie zeigen keine große Resistenz gegenüber Schwefelsäure und geben die Eiweiß- aber nicht die Gerbstoffreaktionen.

Neben den Stachelkugeln beobachtete Overton auch wasserhelle Blasen, die sich chemisch wie die Stachelkugeln verhalten und von denen die meisten an einer oder an mehreren Stellen eine kugelige Wandverdickung aufweisen. Diese Blasen zeigen zu den Stachelkugeln alle Übergänge und sind nach Overton im wesentlichen mit den Stachelkugeln identische Gebilde. Die Blasen sind nach Votava (I) die Anfangsstadien der Stachelkugeln.

Overton (I, 9) hat auch zwei Arten der Gattung Chara, Ch. fragilis und Ch. hispida, untersucht, hier typische Stachelkugeln niemals auffinden können, wohl aber die auch bei Nitella auftretenden nackten, besonders zahlreich in den eigentlichen Internodialzellen, jedoch auch in den Rindenzellen der Blätter, Stengel und Eiknospen vorkommenden.

5. Die Einschlüsse der Chromatophoren.

Bei allen Pflanzen, mit Ausnahme der Pilze und einiger anderer, findet man lebende plasmatische Gebilde, die Farbstoffe enthalten oder diese wenigstens bilden können. Man nennt sie Chromatophoren. Mit Schimper (I), dem wir eine grundlegende Arbeit über Chromatophoren verdanken, teilt man sie ein in Chloroplasten oder Chlorophyllkörner, in Chromoplasten und in Leukoplasten.

Die Chloroplasten führen immer Chlorophyll, daneben noch andere gelbe Farbstoffe, sie sind gewöhnlich grün, seltener, wie bei nichtgrünen Algen, auch anders gefärbt.

Die Chromoplasten sind nicht grün, sondern gelb bis rot, und die Leukoplasten sind überhaupt farblos, können aber Farbstoffe bilden und so zu Chloro- oder Chromoplasten werden. Eine scharfe Grenze zwischen diesen drei Arten von Chromatophoren existiert also nicht, denn sie können ineinander übergehen, ja ein und derselbe Chromatophor kann sogar zweimal oder mehrmals die Metamorphose vom Leukoplasten zum Chromo- oder Chloroplasten, und zwar in verschiedener Reihenfolge durchmachen. Die Chromatophoren bestehen

der Hauptsache nach aus einer sehr eiweißreichen Grundmasse (Stroma), den Farbstoffen und verschiedenen Einschlüssen. Von den Farbstoffen war bereits auf p. 247ff. ausführlich die Rede, nun sollen die Einschlüsse, soweit sie die Mikrochemie betreffen, behandelt werden: Die Proteïnkristalloide, Leukosomen, Pyrenoide, Öltropfen und schließlich die wichtigsten und verbreitetsten, die Stärkekörner nebst einigen anderen Gebilden.

a) Die Proteïnkristalle.

Von A. Meyer (1), insbesondere aber von Schimper (1, 66), wurden in den Chromatophoren verschiedener Angiospermen Proteïnkristalle festgestellt. Sie liegen entweder im Stroma oder ragen daraus hervor oder haften ihm von Anfang an äußerlich an. Sie sind isodiametrisch, tafelförmig, nadelförmig oder prismatisch. Im letzteren Falle sind sie schwach doppelbrechend. Ihr Verhalten ist nicht ganz übereinstimmend. Sie quellen, mit Ausnahme der von Canna, stark auf, werden durch absoluten Alkohol gehärtet und zeigen die Eigenschaften und Reaktionen von Eiweißkörpern. Zu ihrem Nachweis können mit Vorteil die auf p. 314ff. angegebenen Färbungsmethoden angewendet werden. Die Proteïnkristalle wurden in allen drei Arten von Chromatophoren gefunden, doch nicht gerade häufig (Fig. 119). Eine gewöhnliche Er-

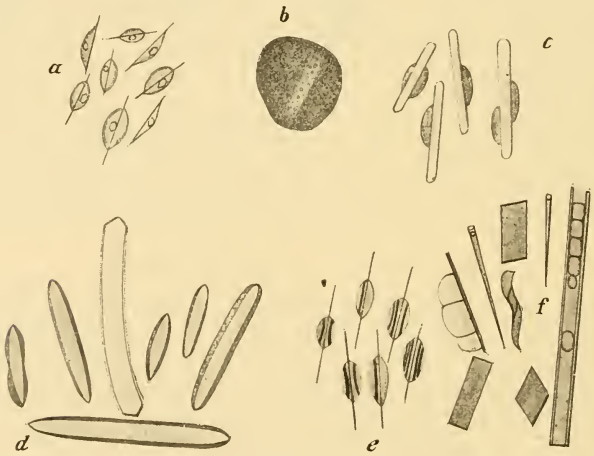


Fig. 119.

a Leukoplasten mit Kristallnadeln aus dem Parenchym eines jungen Niederblattes von Canna Warszewiczii.

b Chloroplast mit Proteïnkristall aus der Rinde der Knolle von Phajus grandifolius.

c Dasselbe aus der Außenrinde.

d Chloroplasten mit großen Proteïnkristallen aus der Epidermis eines alten Stengels von Cerinthe glabra.

e Chromoplasten mit Proteïn- und Farbstoffkristallen aus dem oberen Teile des Stengels von Neottia nidus avis.

f Chromoplasten mit orangegelben und roten Farbstoff (Carotin-)kristallen aus der Wurzel von Daucus Carota. Nach A. F. W. Schimper (1, 242).

scheinung sind sie bei Orchideen in verschiedenen Organen und in der Epidermis der Boragineen.

b) Die Leukosomen.

In den Leukoplasten gewisser Tradescantia-Arten, Tr. discolor, Tr. albiflora, ferner bei Zebrina pendula, Spironema fragrans und bei Paphiopedilum barbatum fand Zimmermann (II, 22 und 154) kugelige Einschlüsse einer eiweißartigen Substanz, die er Leukosomen nannte (Fig. 120). Sie liegen in den Leukoplasten der Blattepidermis zu ein, zwei oder mehreren beisammen. Ihrem chemischen Verhalten nach bestehen sie, wie die gesamte übrige Masse der Leukoplasten aus proteïnartiger Substanz und unterscheiden sich dadurch wesentlich von den in Leukoplasten vorkommenden Stärkekörnchen. Sie fließen im Jod-

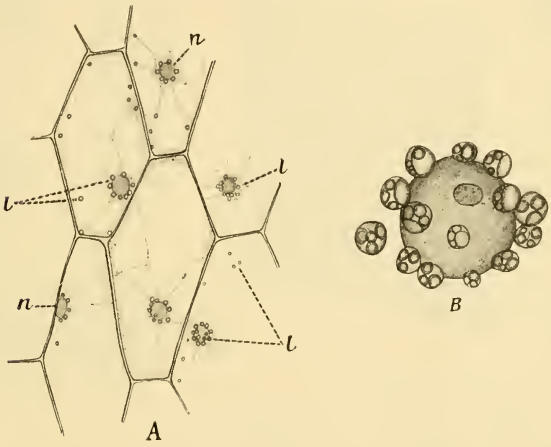


Fig. 120.
Dichorisandra discolor. *A* Epidermiszellen mit Kern *n* und Leukoplasten *l*. Vergr. 180. *B* ein Kern mit Leukoplasten stark vergrößert (1140). In den Leukoplasten kugelige Leukosomen.

wasser zu homogenen Kugeln zusammen und färben sich dann gelb bis braun. Sie geben die Xanthoproteïnsäure- und Millonsche Reaktion und lassen sich mit Säurefuchsin und anderen Farbstoffen leicht färben. Stofflich stehen sie den Proteïnkristallen anderer Chromatophoren nahe, im Grunde genommen sind sie ja nichts anderes als amorphes Proteïn. Zimmermann hat noch eine sehr große Anzahl anderer Pflanzen auf Leukosomen geprüft, jedoch mit negativem Resultat, ihre Verbreitung scheint daher eine sehr beschränkte zu sein.

c) Die Pyrenoide.

Bei zahlreichen Algen und bei Anthoceros kommen im Chromatophor ein oder mehrere, meist kugelige Körper vor, die der Grundmasse

des Chromatophors so eingelagert sind, wie etwa der Nukleolus der Grundmasse des Zellkerns. Sie stellen gleichsam die Kerne des Chromatophors dar und wurden daher von Schmitz (I, 37) Pyrenoide (πυρήν-Kern) genannt. Unter den Algen finden sich Pyrenoide bei zahlreichen marinen und einigen das Süßwasser bewohnenden Diatomeen, bei allen Bangiaceen und Nemalien und den meisten grünen Algen (inklusive der Euglenen). Außerdem besitzen die Chromatophoren des Lebermooses Anthoceros gleichfalls Pyrenoide[1]). Zwischen den Pyrenoiden und der Bildung der Stärke resp. der Körner der Euglenen und Florideen be-

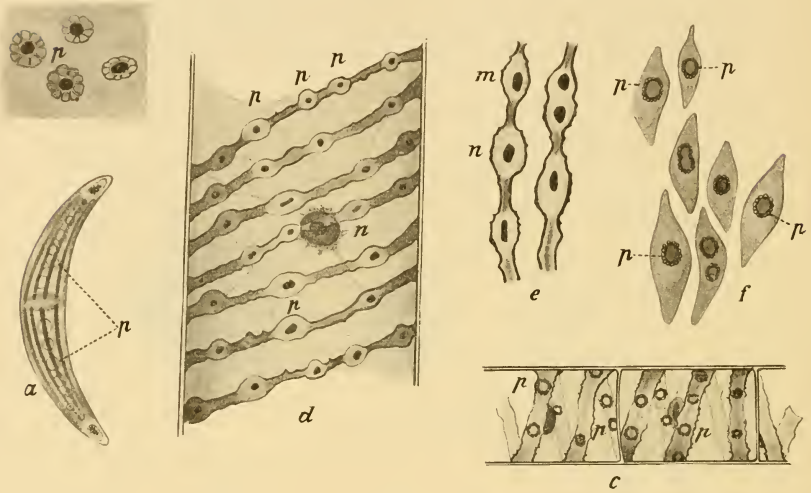


Fig. 121.

Pyrenoide *p* in Chromatophoren von Algen.

a Closterium moniliferum mit Pyrenoiden. Vergr. etwa 50.

b Pyrenoide mit Stärkeherden aus Closterium Ehrenbergii. Vergr. 350.

c Spirogyra sp. mit Pyrenoiden und Stärkeherden im Chlorophyllband.

d Spirogyra crassa mit Pyrenoiden im Chlorophyllband. *n* der Zellkern. Vergr. 280.

e Ein Teil des Chlorophyllbandes von *d*, 350mal vergrößert, bei *m* und *n* strahlige Fäden vom Zentrum des Pyrenoids zu seiner Peripherie.

f Bryopsis plumosa. Chlorophyllkörner mit Pyrenoiden *p* und Stärkeherden. Vergr. 280.

steht eine konstante Beziehung. Wenn Stärkekörner entstehen, treten sie immer zuerst und hauptsächlich um die Pyrenoide auf, so zwar, daß die Stärkekörner wie eine hohlkugelige Hülle das Pyrenoid umgeben. Diese Hüllen waren seit langem als „Stärkeherde" oder „Stärkekerne" bekannt (Fig. 121 *b*, *c* und *f*). Das Pyrenoid besteht also zumeist aus einem proteïnartigen Kern und einer Stärkehülle. Fehlt die Hülle, was

1) Nach Hansgirg (I) sollen angeblich auch in Moosprotonemen Pyrenoide vorkommen, doch bedarf diese Angabe einer Revision.

entweder bei ungünstigen Kulturbedingungen oder aus inneren Ursachen der Fall sein kann, so erscheint das Pyrenoid nackt (Fig. 121 *d* und *e*). Nach den Untersuchungen von Meyer (I, II) und Schimper (II, 74) besitzt der Kern, also der wesentliche Bestandteil des Pyrenoids, häufig Kristallnatur. Bei Bryopsis sind die Pyrenoide sechseckig, bei einer marinen Cladophora gleichzeitig tafelförmig; sechseckig wurden sie, wenn auch nicht immer sehr regelmäßig, auch bei Mougeotia, Ulothrix, Cladophora glomerata, Spirogyra majuscula und Ulva bullosa gefunden (Schimper II, 81). Nach Zimmermann (IV, 201) kommen aber bei Zygnema und nach Klebahn (I, 426) bei Cosmarium auch Pyrenoide mit nicht kristallisiertem Kern vor, was ja auch begreiflich erscheint, da ja die gleiche oder eine ähnliche Substanz bald im kristallisierten, bald im amorphen Zustand auftreten kann.

Ich darf nicht verschweigen, daß ich mich von der Kristallnatur der Pyrenoide nicht überzeugen konnte und daß ich so regelmäßige Kristallformen, wie sie z. B. Schimper für Bryopsis gezeichnet hat, niemals gesehen habe. Es ist auch nicht leicht einzusehen, wie ein kristallisiertes „Pyrenoid die Bildung von Stärke", d. h. des Stärkeherdes, vermitteln sollte. Aufgefallen sind mir bei den Pyrenoiden von Spirogyra crassa an fixierten und gefärbten Präparaten eigenartige strahlige Fäden, die vom Zentrum des Pyrenoids zu seiner Peripherie gehen (Fig. 121*e* bei *m* und *n*). Das Pyrenoid erscheint in der Mitte der Strahlungsfigur aufgehängt, etwa wie eine Spinne im Netz.

Die Pyrenoide geben die Eiweißreaktionen, werden durch Alkohol und Pikrinsäure fixiert, durch Gentianaviolett, Hämatoxylin, Karmin und andere Farbstoffe mehr oder weniger gefärbt. Besondere Tinktionsmethoden hat Zimmermann (IV, 201) ausgearbeitet, sie leisten besonders dann gute Dienste zur Erkennung der Pyrenoide, wenn sie durch stark entwickelte Stärkehüllen maskiert erscheinen.

Bei Dicranochaete reniformis, einer in Sphagnumblättern lebenden Protococcacee, beobachtete Hieronymus (I) nackte Pyrenoide, d. h. solche, denen eine Stärkehülle stets abgeht. Die Stärke entsteht hier an beliebigen Stellen des Chromatophors. Das Pyrenoid besteht hier aus einer proteïnartigen Hülle und aus einem Eiweißkristall, wenigstens sprechen die meisten von Hieronymus angeführten Reaktionen dafür, ausgenommen einige Angaben, wie z. B. die, daß sich die Pyrenoide in kochendem Wasser lösen.

Die Pyrenoide spielen zweifellos eine sehr wichtige Rolle, denn sie sind bei der Bildung der Stärke sicherlich irgendwie beteiligt. Ihre Kristalloide unterscheiden sich von den Kristalloiden der Zellkerne, des Plasmas und des Aleurons dadurch, daß die letzteren eine Beziehung zur Stärkebildung nie erkennen lassen.

Die Angaben darüber, wie die Pyrenoide entstehen, ob durch Neubildung oder durch Teilung, lauten verschieden. Schimper nimmt im Gegensatz zu Schmitz nur Neubildung an, Chmilewskij (I) will bei Zygnema nur Teilung beobachtet haben, Overton (I, 148) sah bei Hydrodictyon Neubildung, Klebs (I) beobachtete Auflösung der Pyrenoide bei derselben Alge und Strasburger (I) bei Cladophora (Zimmermann V, 93).

d) Die Öltröpfchen.

Durch die Untersuchungen von v. Mohl (I), Böhm (I), Nägeli (I), Briosi (I), Holle (I), Godlewski (I), Borodin (I), Schmitz (I), Meyer (I), Klebs (I), Pringsheim (I) und insbesondere von Schimper (I, 173) wurde auf das Vorkommen von ölartigen Einschlüssen in Chromatophoren hingewiesen. Es seien nur einige Beispiele erwähnt. Nägeli entdeckte in den Chlorophyllkörnern des Rindenparenchyms von Rhipsalis funalis und Cereus variabilis ölartige Einschlüsse. Briosi (I, 532) fand die Chlorophyllkörner älterer Blätter von Strelitzia- und Musa-Arten stets stärkefrei, dagegen immer mit einer ölartigen Substanz versehen, die im lebenden Korn unsichtbar war, sich aber beim Aufquellen in Form von Tröpfchen ausschied (Fig. 122). A. Meyer (I, 14) fand bei verschiedenen Monocotyledonen (Musaceen, Bromeliaceen, Dracaena, Agave) ölartige Einschlüsse, betont jedoch, daß sie sich durch ihre Reaktionen sowohl von den fetten als auch von den ätherischen Ölen unterscheiden. Nach Schmitz (I, 160) befinden sich die Öltröpfchen bei den Algen nicht im Chlorophyllkorn, sondern auf der Peripherie, sind jedoch in ihrer Entstehung abhängig vom Chromatophor. Während man bisher das Auftreten der Öltröpfchen in den Chromatophoren für etwas Vereinzeltes hielt, zeigte Schimper, daß es sich um eine nahezu allgemeine Erscheinung handle. Nur bei Farnen und Moosen konnte er sie nicht beobachten.

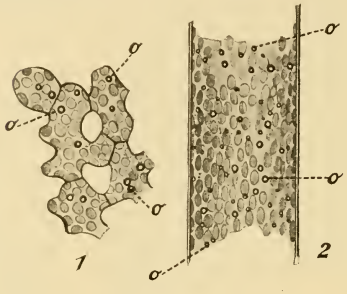


Fig. 122.
1. Ölkügelchen *o* zwischen den Chlorophyllkörnern der Mesophyllzellen von Musa sp.
2. Ölkügelchen *o* auf und zwischen den Chlorophyllkörnern von Vaucheria terrestris. Vergr. 350.

Die Öltröpfchen liegen entweder im Chromatophor, oder sie sitzen dem Stroma auf und ragen vollständig frei in das Plasma hinein. Am leichtesten sind sie in langlebigen Blättern, z. B. in denjenigen von Mesembryanthemum, Agave, Strelitzia, Cordyline vivipara, Orchideen, in Stengelorganen der Kakteen und den Scheinknollen der Orchideen zu beobachten.

Jugendliche, kräftig vegetierende Organe bilden nur selten Öltropfen, z. B. Vaucheria. Hier sitzen sie den Chromatophoren auf (Fig. 122, II). In abfallenden Blättern hingegen, treten sie kurz vor dem Gelbwerden reichlich auf. Ebenso bei ungünstigen Kulturbedingungen [A. Meyer, Wakker (I, 474)].

Wenn auch die Reaktionen der Öltröpfchen nicht immer gleich sind, so gehören sie jedenfalls chemisch nahe zusammen. Sie sind alle unlöslich in Wasser, Essigsäure, löslich in Alkohol und Äther und färben sich mit Überosmiumsäure braun. Sie stimmen, wie Meyer (I, 28) hervorgehoben hat, weder mit ätherischem Öl noch mit fettem ganz überein, man kann sie aber, bevor sie chemisch näher charakterisiert sind, vorläufig mit Schimper (I, 180) aus prak-

tischen Gründen als Öltröpfchen bezeichnen, ohne damit aber jetzt schon sagen zu wollen, daß sie mit fetten Ölen identisch sind. Wahrscheinlich aber stehen sie ihnen sehr nahe. Auch sei bemerkt, daß sie nicht immer dieselben Reaktionen geben. So sind sie bei einigen Pflanzen in Chloralhydrat löslich, bei den meisten aber unlöslich, manche nehmen Hansteinsches Anilin-Methylviolettgemisch gierig auf, andere wieder nicht oder nur in geringen Mengen.

Über die physiologische Bedeutung der Öltröpfchen lauten die Ansichten auch recht verschieden. Holle hielt sie für ein Assimilationsprodukt vergleichbar der Stärke, während sie Godlewski als Auswurfstoff betrachtete. Die Beobachtungen Schimpers, denen zufolge die Öltropfen erst in alternden Organen deutlich werden oder sich häufen und dann nicht mehr resorbiert werden, sprechen dafür, daß man es in den Öltropfen mit einem weit verbreiteten Auswurfstoff zu tun hat. Schimper hält dies auch für Vaucheria wahrscheinlich, wo Borodin in den Öltropfen ein Assimilationsprodukt zu erblicken glaubte.

In die verschiedenen, oft widerstreitenden Ansichten über die erwähnten Öltröpfchen haben die Untersuchungen A. Meyers (VII, 313) Klarheit gebracht. Seine Ergebnisse lassen sich etwa folgendermaßen zusammenfassen. Er teilt die Öltröpfchen in zwei Gruppen, die einen entstehen in den Chlorophyllkörnern und treten aus ihnen heraus (Tropaeolum). Sie bilden das Assimilationssekret. Die anderen stellen das Mesophyllsekret oder kurzgesagt das Mesekret dar (Fig. 123), d. h. Öltröpfchen, „welche sich im Zytoplasma der Mesophyllzellen abgelagert finden, sich in viel Alkohol und Chloroform ganz oder großenteils lösen, mit Osmiumsäure bräunen, fast ganz oder ganz flüchtig sind, für uns keinen auffallenden Duft und Geschmack haben und in den jungen Blättern noch weniger entwickelt sind als in den älteren“ (Ilex aquifolium).

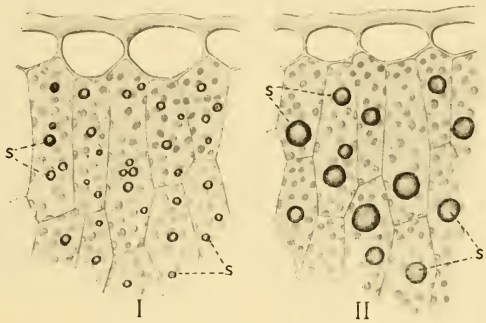


Fig. 123.
Mesophyllsekret s. I u. II Stücke der Blattoberseite von Taxus baccata. I von einem 1jährigen Blatte, II von einem 4jähr. Das Mesophyllsekret bei II viel reichlicher als bei I. Vergr. 285.

Das „Assimilationssekret“ stellt ein Abfallprodukt dar, das bei der Kohlensäureassimilation entsteht. Es erscheint in den Chloroplasten zuerst in Form undeutlicher Kügelchen (Grana), nimmt aber mit der Dauer der Assimilation derart zu, daß es schließlich in Tropfenform aus den Chlorophyllkörnern austritt. Daher sind die Blätter, die in völliger Dunkelheit erwachsen sind, frei von Assimilationssekret. Dies spricht sehr dafür, daß es sich um einen Auswurfstoff handelt.

Was die chemische Zusammensetzung dieser ziemlich allgemein verbreiteten Sekrettropfen anbelangt, so bestehen sie nach Meyer wahrscheinlich hauptsächlich aus α, β-Hexylenaldehyd ($C_6H_{10}O$), $CH_3—CH_2—CH_2—CH=CH—C\overset{O}{\underset{H}{}}$. Das Sekret wird durch 2 proz. Osmiumsäure gebräunt und schwerer löslich gemacht. In den Chloroplasten tritt es schön hervor, wenn man nach der Einwirkung der Osmiumsäure zu dem Präparat Chloralhydrat mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnt (Chloralhydrat 2+5, 1 Vol., verdünnt mit 1 Vol. Wasser) hinzufügt.

Die Tropfen des Assimilationssekretes sind in Wasser unlöslich, lösen sich mehr oder minder langsam in Alkohol, Essigsäure und Äther.

Das Mesophyllsekret ist bei vielen Arten der Angio- und Gymnospermen, besonders bei immergrünen gefunden worden. Einmal ausgeschieden, wird es nicht mehr merklich angegriffen.

Die Mesekrettröpfchen lösen sich, soweit untersucht, in 95 proz. Alkohol schwer, leicht in Chloroform, Xylol, Petroläther und Schwefelkohlenstoff. Durch Kalilauge + Ammoniak werden sie nicht kristallinisch und durch ammoniakalische Silberlösung nicht verändert. Aus diesen und anderen Reaktionen, bezüglich welcher man bei A. Meyer (VII, 331) das weitere findet, geht hervor, daß das Mesekret ein Gemisch von wasserunlöslichen Stoffen ist, die sich beim Verdampfen und gegen Lösungsmittel ungleich verhalten, keine Aldehyde und anscheinend auch Phenole nicht in größerer Menge führen. Meyer vermutet, daß das Mesekret hauptsächlich aus Assimilationssekret gebildet und im Protoplasma eingelagert wird, wo es auch in benachbarte Zellen auswandern kann. Beide Sekrete sind wahrscheinlich als Abfallprodukte zu betrachten, die nicht mehr in den Stoffwechsel einbezogen werden.

e) Die Stärke.

Zu den verbreitetsten Pflanzenstoffen gehört die Stärke. Nur bei den Pilzen, den Diatomeen, Cyanophyceen, Braunalgen und einigen anderen Pflanzen hat man sie vermißt. Sie kommt in der lebenden Zelle niemals in gelöstem Zustande (vgl. p. 198), sondern immer in fester Form, zumeist in Körnerform vor. Ihre Entstehung ist stets an das Vorhandensein eines Chromatophors geknüpft. Nur in einem Chlorophyllkorn, in einem Chromo- oder Leukoplasten kann Stärke entstehen. Später, wenn das Stärkekorn erwachsen ist, sieht es allerdings so aus, als ob es frei im Plasma läge.

Vom physiologischen Standpunkte kann man mit Wiesner (I, 561) die Stärke unterscheiden

1. als autochthone Stärke, die bei der Kohlensäureassimilation im Chlorophyllkorn entsteht,

2. als Reservestärke, die in den Speicherorganen (Knollen, Zwiebeln, Rhizomen, Samen, Stämmen usw.) aufgestapelt wird,

3. als transitorische Stärke, die aus den Chlorophyllkörnern zu den Reservebehältern und von diesen zu den wachsenden Teilen in Form von Zucker wandert und auf der Wanderung wieder zu kleinen Stärkekörnern umgewandelt wird (Fig. 124).

Die Gestalt der Stärkekörner wechselt sehr: es gibt kugelige, ellipsoidische, polygonale, scheiben-, stab-, knochenförmige und andere Formen (Fig. 125).

Die Größe schwankt zwischen Bruchteilen eines bis etwa 100 μ und darüber.

Viele Stärkekörner erscheinen geschichtet, entweder konzentrisch oder exzentrisch. Sie sind entweder einfach oder zusammengesetzt.

Chemie. Die empirische Formel der Stärke ist $C_6H_{10}O_5$, ihre Molekulargröße vorläufig nicht bekannt. Wird die Molekularformel mit $(C_6H_{10}O_5)_n$ bezeichnet, so stellt n jedenfalls eine Zahl dar, die bedeutend größer als 4 ist. Intakte Stärkekörner lösen sich in kaltem Wasser nicht, beim Erwärmen in Wasser quellen sie auf und werden

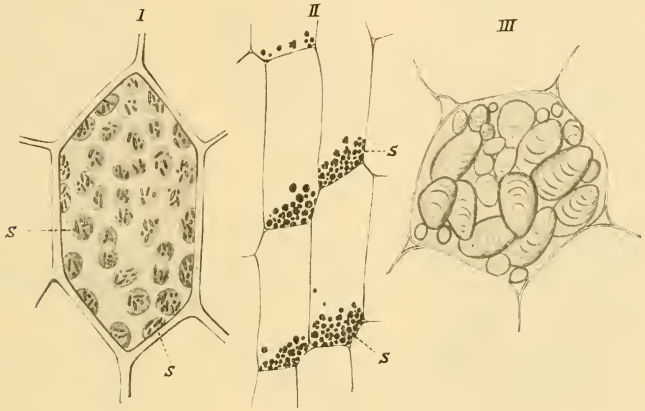


Fig. 124.

I. Zelle eines Moosblattes (Mnium), erfüllt von Chlorophyllkörnern. In diesen Körnchen und Stäbchen: die autochthonen Stärkekörnchen *s*. Vergr. 450.

II. Tangentialschnitt durch die Stärkescheide des Epikotyls von Phaseolus multiflorus. An der Basis der Zellen die transitorische Stärke *s*. Vergr. 180.

III. Reservestärke in der Parenchymzelle einer Kartoffelknolle. Vergr. 80.

in eine kolloidale Masse, in Kleister, umgewandelt. Die Temperatur, innerhalb welcher sich die Kleisterbildung vollkommen vollzieht, schwankt je nach der Stärkeart zwischen 55—87° C. Eine Aufquellung der Stärke kann auch durch konzentrierte wässerige Lösungen neutraler Salze und durch starke Basen erzielt werden. 40proz. Calciumnitrat-, 30proz. Calciumchloridlösung, 2proz. Kali- oder Natronlauge leisten hierbei gute Dienste.

Nach Meyer (III, 2) bestehen die Stärkekörner aus Amylose und kleinen Mengen von Amylodextrin. Die Amylose tritt in zwei Modifikationen auf, einer bei 100° flüssig werdenden (β-Amylose) und einer anderen, die bei dieser Temperatur mit Wasser nicht flüssig wird (α-Amylose).

Nach neueren Untersuchungen von Macquenne (I) setzt sich die natürliche Stärke aus Amylose und Amylopektin zusammen. Macquennes Amylose ist identisch mit Meyers α-Amylose und beträgt 60 bis 80% der Stärke. Sie löst sich ohne Rückstand in Alkalien, gibt nie Kleister, färbt sich mit Jod blau und stellt ein Gemisch dar, dessen Komponenten sich durch ihr Verhalten gegen siedendes oder überhitztes Wasser unterscheiden. Amylopektin ist ein gelatinöser, in Wasser und Alkali unlöslicher Körper, der sich mit Jod nur sehr wenig färbt (Zemplén I, 115).

Biedermann (I) hat ausgedehnte Untersuchungen über die Einwirkung von menschlichem Speichel hauptsächlich auf Weizenstärke gemacht und kommt gleichfalls zu dem Schlusse, daß das Stärkekorn der Hauptsache nach aus Amylose und Amylopektin besteht, daß aber neben diesen noch ein dritter Körper an dem Aufbau teilnimmt, der der Zellulose sehr nahe steht, und für den er den Namen Amylozellulose vorschlägt.

Fig. 125.
Stärkearten: 1. Triticum vulgare. 2. Zea Mais. 3. Phaseolus multiflorus. 4. Euphorbia splendens (a. d. Milchsaft.) Vergr. 350. Vgl. auch Fig. 124.

Nach den ausführlichen Darlegungen Meyers (III, 116) faßt man heute allgemein das Stärkekorn als einen Sphärokristall von Amylose, eventuell aus Amylose und Amylodextrin, auf. Diese Substanzen bilden trichitische Kristalle, die in radiärer Anordnung den Sphärokristall aufbauen. Mit diesem kristallinischen Bau hängt auch das Verhalten der Stärkekörner im polarisierten Lichte zusammen, denn bei gekreuzten Nikols erscheinen sie hell mit einem dunklen Kreuz, dessen Schnittpunkt durch den Kern des Stärkekorns geht.

Von großer Wichtigkeit ist das Verhalten der Stärke zu Jod. Stärkekörner werden mit Jodwasserstoff enthaltenden Jodlösungen oder Jodjodkaliumlösung schwarzblau, mit verdünnten Lösungen indigoblau. Die entstehende Substanz, die sogenannte Jodstärke, wird bald als eine chemische Verbindung angesehen, bald als das Produkt der Einlagerung von Jod in die Stärkesubstanz mit blauer Farbe oder als Lösung des Jods in der Stärkesubstanz. Beim Erwärmen im Wasser

verschwindet die blaue Farbe, beim Erkalten kehrt sie wieder zurück.

Für den mikrochemischen Nachweis kommen die erwähnten Eigenschaften gegenüber Wasser, Mineralsalzen, Basen, das Aussehen, die Größe, Struktur, Doppelbrechung, Kleisterbildung, insbesondere aber das Verhalten zu Jod in Betracht. Die Jodstärkereaktion gehört zu den wertvollsten, die wir in der botanischen Mikrochemie besitzen. Sie tritt ganz lokal auf und kann noch bei sehr starken Vergrößerungen beobachtet werden. Man bedient sich zum Stärkenachweis zumeist einer wässerigen Jodlösung (Jodwasser), einer alkoholischen Jodlösung (Jodtinktur) oder einer Lösung von Jodjodkalium (vgl. p. 18). Ein Zuviel von Jod ist zu vermeiden, da sich sonst die Stärkekörner oft schwarzblau oder schwarzbraun färben. Eine schön reinblaue Färbung erhält man bei Verwendung verdünnter Lösungen. Das Substrat muß neutral oder schwach sauer sein. Alkalien verhindern die Reaktion, weil das freie Jod sofort gebunden wird, auch manche andere Körper, wie gewisse Phenole, Tannin, arabisches Gummi usw. Gequollene oder verkleisterte Stärke eignet sich ganz besonders für die Reaktion und von dieser Tatsache macht man mit Vorteil Gebrauch, wenn es sich um den Nachweis sehr geringer Stärkemengen, z. B. im Pollen oder im Chlorophyllkorn, handelt. Für solche Zwecke hat sich in ausgezeichneter Weise das von Meyer empfohlene Jodchloralhydrat (vgl. p. 19) bewährt. Dieses Reagens zerstört die übrigen Zellbestandteile, hellt den Schnitt auf, verkleistert die Stärke und macht die geringsten Stärkespuren blau. Die Beobachtung darf nicht zu lange hinausgeschoben werden, weil das Chloralhydrat die Stärke nach längerer Zeit zersetzt.

Das von Noll (I. 377) zur Aufhellung und Lösung des Plasmas empfohlene Eau de Javelle kann nach Heinricher (IV) ebenso wie das Chloralhydrat zum Nachweis kleinster Stärkemengen verwendet werden. Während das Plasma in Javellescher Lauge unter Aufhellung rasch zerstört wird, bleiben die Stärkekörner relativ lange erhalten. Sie verkleistern nach und nach und werden hierdurch für die Jodreaktion gut vorbereitet. Sie färben sich dann auf Jodzusatz intensiv blau. Man hat beim Arbeiten mit der erwähnten Lauge darauf zu achten, daß sie nicht zu lange einwirkt, weil sie sonst die Stärke ganz auflöst.

Als Ersatzmittel für das zum Stärkenachweis verwendete Jodchloralhydrat kann man mit Vorteil nach Naumann (I) das stark aufhellende Phenol, in dem einige Splitter Jod aufgelöst wurden, benützen.

Die sogenannte Sachssche (I) Jodprobe, die es erlaubt, den Gehalt und die Verteilung der Stärke in einer ganzen Pflanze oder in einem ganzen Blatte makroskopisch zu überschauen, besteht bekanntlich darin, das Blatt im Wasser ganz kurze Zeit zu kochen, durch Alkohol von Chlorophyll zu befreien und dann mit starker alkoholischer Jodtinktur zu behandeln. Diese Methode hat Schimper (III, 739) modifiziert, um sie auch mikrochemisch auszuwerten. Er legt zu diesem Zwecke die zu untersuchenden, durch Alkohol des Chlorophylls beraubten Blätter in eine Lösung von Jodchloralhydrat (8 T. Chloral auf 5 T. Wasser) für 12 Stunden ein. Hierdurch werden die Blätter, wenn sie nicht zu

dick waren, so durchsichtig, daß sie selbst bei starken Vergrößerungen unterm Mikroskop die Stärkekörner durch ihre blaue Farbe verraten.

Außer den gewöhnlichen Stärkekörnern, die mit Jod blau werden, gibt es — allerdings relativ selten — auch solche, die sich mit Jod rot oder rotviolett färben. Die genauesten Mitteilungen darüber verdanken wir Meyer (III, 79; IV, 338). Derartige abnorme Stärkekörner, die kurz als „rote" Stärkekörner bezeichnet werden sollen, sind bisher gefunden worden bei:

Iridaceen, Iris germanica.

Gramineen, Oryza sativa var. glutinosa; Panicum miliaceum var. canditum glutinosum; Sorghum vulgare glutinosum.

Orchidaceen, Goodyera repens, discolor; Malaxis monophyllos, Epipogium Gmelini; Serapis Lingua; Phalaenopsis grandiflora, Schilleriana; Stanhopea oculata (Porsch).

Papaveraceen, Chelidonium majus.

Aceraceen, Acer Pseudoplatanus.

Ericaceen, Monotropa Hypopitys.

Gentianeen, Gentiana lutea; Swertia perennis (Meyer IV, 342), Cotylanthera Bl. (Figdor I).

Die in Wasser liegenden Stärkekörnchen dieser Pflanzen, z. B. die von Sorghum, färben sich mit Jod zunächst schwach violett, dann stärker rotviolett und schließlich intensiv rotbraun, entweder durchgehend oder mit Ausnahme des Zentrums, das sich violett oder blau färbt. Shimoyana (I) und Meyer führen dieses abweichende Verhalten der roten Stärkekörner darauf zurück, daß sie neben Amylose noch Dextrin und Amylodextrin enthalten, das für sich mit Jod eine rotbraune Färbung gibt. Figdor meint, daß zwischen dem Auftreten der jodrötenden Stärke und dem Saprophytismus Beziehungen bestehen könnten.

6. Die Florideenstärke.

In den meisten Rotalgen findet man Körner, die man, weil sie mit Jod häufig eine der Stärke ähnliche Reaktion geben, als Florideenstärke bezeichnet hat. Sie wurden schon in älterer Zeit von Rosanoff (I), van Tieghem (I), Belzung (I), Hansen (I) und in neuerer Zeit von Bruns (I) und Kolkwitz (I) untersucht. Die Größe schwankt. Die kleineren messen oft nur 0,5, die größeren zwischen 3—6 μ.

Die Gestalt der Körner ist bei verschiedenen Rotalgen nicht gleich, zumeist rund, abgerundet kegelförmig mit flacher Vertiefung oder umgestülpter Basis, oder flach scheibenförmig (Fig. 126). Beim Rollen der Körner ist die Abplattung und die Vertiefung gut zu sehen.

Eine Schichtung ist nicht zu beobachten; manchmal ist ein Mittelpunkt oder ein Riß wahrzunehmen wie bei echter Stärke. In polarisiertem Lichte zeigen sie ein dunkles Kreuz.

Auf 75° C erhitzt oder auf Zusatz von Kalilauge oder Salzsäure quellen sie stark auf.

Verhalten zu Jod. Die im Wasser befindlichen Körner färben sich, wenn man einige Jodkristalle zulegt, weinrot, violett und schließlich rotbraun. Unterwirft man die Körner in aufgequollenem Zustande der Jodreaktion, so neigt der Farbenton mehr ins Violettrote und Blaue, wie man sich bei Behandlung der Körner mit Jodchloralhydrat überzeugen kann (Kolkwitz I, 36). Ich habe zu diesem Zwecke

auch die Sachssche Jodprobe mit Vorteil verwendet; man kann dann an dem violetten Farbenton die Verteilung der Stärke im ganzen Thallus mikroskopisch erkennen. — Charakteristisch ist das Verhalten der Florideenstärkekörner gegen Chlorzinkjod. Sie färben sich darin gelb, braun, weinrot bis violett, quellen bedeutend auf, stülpen sich scheinbar um und nehmen eine unregelmäßige Form an (Fig. 126).

Da die Florideenstärke die rein blaue Farbe mit Jod gewöhnlich vermissen und in ihrem Verhalten zu Jod und auch sonst eine gewisse Ähnlichkeit mit den sogenannten „roten" Stärkekörnern gewisser Phanerogamen erkennen läßt, glaubt Bruns (I, 177), daß die Florideenstärke mit den roten Stärkekörnchen so ziemlich übereinstimmen dürfte. Kolkwitz hingegen meint, weil auch bei der Phanerogamenstärke mit Jod verschiedene Farbennuancen zum Vorschein kommen, die denen der Florideenstärke gleichen, daß diese sich von der typischen Stärke nicht unterscheide, und daß es am besten wäre, den Namen Florideenstärke ganz zu vermeiden, da sie nicht eine besondere Bezeichnung verdiene. Nach Kolkwitz spielt die Florideenstärke zweifellos dieselbe Rolle wie die Stärke bei anderen Pflanzen. Ob sie aber auch chemisch identisch mit der Stärke der anderen Pflanzen ist, wage ich, bevor die mikrochemischen Untersuchungen nicht auch durch makrochemische ergänzt sind, vorläufig nicht zu entscheiden. Jedenfalls steht die Florideenstärke der typischen Stärke sehr nahe. Dieser Meinung ist auch Kylin (I), er hält aber die Florideenstärke für eine besondere Modifikation der Stärke.

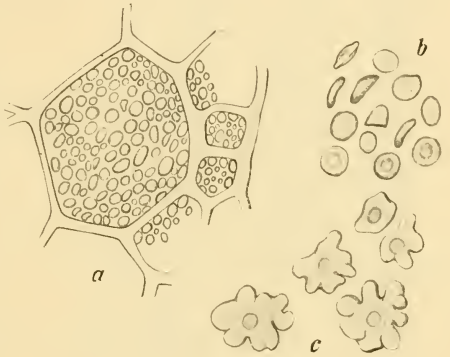


Fig. 126.
Florideenstärke.
a Gewebestück aus Vidalia volubilis. Die Zellen mit Stärke erfüllt. Vergr. 250.
b Einzelne Stärkekörner stärker vergrößert. Vergr. 350.
c Einzelne Stärkekörner nach Behandlung mit Chlorzinkjod. Vergr. 350.

Entstehung. Im Gegensatz zu den gewöhnlichen Stärkekörnern entstehen die der Florideen nicht im Innern der Chromatophoren. Nach den Untersuchungen von Schmitz (I, 152) sollen sie sich aber unter dem direkten Einfluß und unter der Mitwirkung der Chromatophoren, diesen häufig anliegend, entwickeln. Dieselbe Ansicht haben Henckel (I) und Kylin (I, 190). In scharfen Gegensatz hierzu stellt sich Schimper (I, 199), indem er behauptet, die Florideenstärkekörner seien nicht Produkte der Chromatophoren, sondern des Cytoplasmas, und eine konstante Abhängigkeit der Bildung dieser Körner von den Chromatophoren sei nicht vorhanden. Der Gegenstand erfordert neue Untersuchungen (Oltmanns I, 149).

7. Das Paramylum.

Bei den Euglenen und verwandten Flagellaten treten anstatt der Stärkekörner äußerlich ähnliche, in wesentlichen Punkten aber abweichende Körner, Paramylumkörner genannt, auf. Makrochemisch wurden sie zuerst von Gottlieb (I), mikrochemisch-biologisch hauptsächlich von Schmitz (I, 155) und Klebs (III, 269) untersucht.

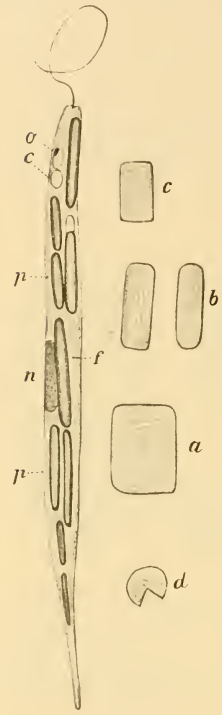


Fig. 127.
Paramylum *p* in Euglena acus. *n* Kern, *c* Hauptvakuole, *o* Augenfleck. Vergr. 400. Rechts von der Euglena isolierte Paramylumkörner (*a*, *b*, *c*, *d*) v. Euglena Ehrenbergii. *a*, *c* Vorderansicht, *b* Seitenansicht, *d* scheibenförmiges Korn, durch Druck eingerissen. Vergr. 800. Nach Klebs.

Eigenschaften. Die Paramylumkörner stellen ein Kohlehydrat $(C_6H_{10}O_5)_n$ dar. Ihre Größe und Gestalt wechselt. Von der kreisrunden bis zur schmalen zylindrischen Form finden sich allerlei Übergänge. Sie sind meist abgeflacht, bisweilen dünn scheibenförmig. Auch ring-, stab-, knie-, uhrglas- und sternförmige Formen finden sich bei gewissen Arten vor.

Paramylum ist sehr widerstandsfähig. Salzsäure und organische Säuren lassen es anscheinend unverändert, Salpetersäure und konzentrierte Chromsäure greifen es nur schwer an. Es löst sich leicht in 6proz. Kalilauge und konzentrierter Schwefelsäure. 5proz. Kalilauge läßt die Körner unverändert, 6proz. bringt sie zur raschen Quellung und Auflösung. In starker Kalilauge löst es sich sofort, langsamer in konzentrierter Schwefelsäure.

Durch Jod und Chlorzinkjod wird es nicht gefärbt, desgleichen nicht durch organische Farbstoffe.

Die Körner zeigen, und dies tritt besonders bei der Quellung hervor, einen weniger dichten zentralen Teil und, wie Klebs (III, 271) im Gegensatz zu Schmitz nachweisen konnte, eine konzentrische Schichtung. Die großen, scheibenförmigen oder glattzylindrischen Formen verraten die Schichtung direkt, und zwar sowohl auf der Fläche als auch im Profil (Fig. 127).

Entstehung. Die Paramylumkörner entstehen im Gegensatz zu den Stärkekörnern nicht in direkter Abhängigkeit der Chlorophyllkörper bzw. Leukoplasten, sondern im Cytoplasma. Sie sitzen dem Chromatophor oft auf und werden dann ins Plasma geführt. Bei Euglena viridis liegen sie dem sternförmigen Chromatophor in der Nähe des Pyrenoids häufig auf, wodurch Gestalten entstehen, die den Stärkeherden anderer Algen ähneln; sie werden als Pseudo-Paramylumherde bezeichnet. Später erscheinen die Körner auch längs der Zipfel des Chloro-

phylträgers reichlich, niemals aber liegen sie im Chromatophor, sondern stets außerhalb. Funktionell stimmt das Paramylum mit der Stärke wohl überein. Wenn sich auch der Beweis hierfür nicht so glatt wie bei der Stärke erbringen läßt, so ist doch erwiesen, daß das Paramylum in Abhängigkeit von der Kohlensäureassimilation entsteht, daß es sich bei Belichtung vermehrt und beim Verdunkeln teilweise auflöst.

8. Die Fukosanblasen.

In den Zellen der Fucoideen wurden seit langem stark lichtbrechende, körnchenähnliche Gebilde bemerkt, über die im Laufe der Zeit ganz verschiedene Ansichten geäußert worden sind. So treten nach Schmitz (I, 154) in den Zellen der Phaeophyceen, ähnlich wie bei den Florideen, an der Oberfläche der Chromatophoren glänzende Körnchen auf, die unter dem Einfluß der Chromatophoren entstehen und dann in das Plasma geführt werden. Er bezeichnete sie als „Phaeophyceenstärke", obwohl sie mit Jod gar nicht gefärbt werden. Außerdem unterschied er mattglänzende hyaline Tröpfchen im Plasma, die im Gegensatz zur Phaeophyceenstärke beim Absterben der Zelle im süßen Wasser leicht verquellen, sich in Alkohol lösen und in Pikrinsäure vollständig verschwinden.

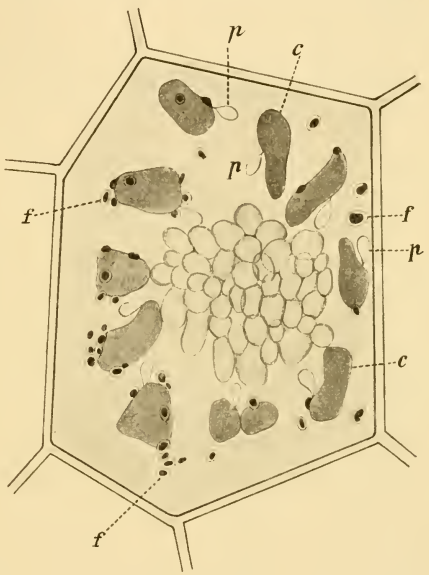


Fig. 128.
Asperococcus bulbosus. Eine Zelle aus dem Thallus mit 0,1 % Osmiumsäure fixiert und mit Methylenblau gefärbt. Fukosanblasen *f*, die sogen. Pyrenoide *p*, die Chromatophoren *c*, in der Mitte ein Haufen zusammengeflossener Fukosanblasen. Vergr. 2000. Nach Kylin (II).

Berthold (I, 56) hält Schmitz' Phaeophyceenstärke für eine eiweißartige Substanz und die mattglänzenden hyalinen Tröpfchen für Gerbsäurebehälter. Kuckuck (I) hält die Phaeophyceenstärke für Pyrenoide, Hansen (I, 276) für Fett, und Crato (I—II) nennt sie „Physoden" und hält sie für Bläschen, die Phloroglucin oder ein Derivat davon enthalten, da sie sich mit Vanillin-Salzsäure rot färben. Bruns (I, 166) schließt sich dieser Ansicht an, glaubt aber, daß sie noch Fett enthalten. Demgegenüber aber stehen wieder die Untersuchungen von Hanstein (I, II), der die Körnchen insgesamt als Fucosankörner be-

zeichnet, die aus Fucosan, einem besonderen Kohlehydrat bestehen sollen. In jüngster Zeit hat KYLIN (II) die Frage nach den Inhaltsstoffen der Fucoideen untersucht, und er glaubt drei verschiedene Gebilde unterscheiden zu können: 1. Pyrenoide, 2. Fucosanblasen und 3. Fetttröpfchen (Fig. 128).

1. Pyrenoide. In der Mitte jeder Assimilationszelle von Asperococcus findet man eine traubenförmige Ansammlung stark lichtbrechender Körperchen, die Fucosanblasen. Daneben finden sich, an den Chromatophoren mit kurzem Stiel befestigt, die Pyrenoide. Diese werden durch Osmiumsäure nicht geschwärzt, von Methylenblau nicht gebläut, von Säuren, Alkohol nicht gesprengt, von Jod im Meerwasser nicht zerstört, während bei den Fucosanblasen in allen diesen Fällen das Gegenteil zutrifft. In Übereinstimmung mit BERTHOLD glaubt KYLIN, daß die Pyrenoide aus Eiweiß bestehen. Da sie aber die MILLONsche Reaktion nicht geben und auch sonst keine genaueren Belege für ihre Eiweißnatur vorgebracht werden, so scheint es mir recht zweifelhaft, ob wir es hier tatsächlich mit Pyrenoiden zu tun haben, zumal doch Pyrenoide stets im Chromatophor vorkommen und nicht auf diesem. Der Name erscheint mir daher nicht glücklich gewählt, und auch KYLIN meint, es wäre besser, ihn gegen einen anderen zu vertauschen.

2. Die Fucosanblasen bestehen nach KYLIN aus einer Plasmahaut mit flüssigem, stark lichtbrechendem Inhalt, kommen am reichlichsten in assimilierenden Zellen und den Fortpflanzungskörpern vor und können, wie bereits von anderen Forschern dargetan wurde (HANSTEEN, CRATO usw.), längs der Plasmafäden hin und hergleiten. Die Fucosanblasen werden durch Wasser, Alkohol, Äther, sehr verdünnte Säuren, Natronlauge und Jodjodkaliumlösung gewöhnlich zersprengt, wobei sich ihr Inhalt mit dem Zellinhalt mischt. Sie färben sich mit Vanillinsalzsäure (Vanillin in konzentrierter Salzsäure gelöst) und Piperonal-Schwefelsäure (1 Vol. alkoholische Piperonallösung + 1 Vol. konzentrierte Schwefelsäure) rot. Ihr Inhalt wird von Osmiumsäure und ammoniakalischer Silbernitratlösung geschwärzt und nimmt Methylenblau und Methylviolettlösung gierig auf. Die Fucosanblasen enthalten jene Substanz, durch deren Oxydation postmortal das Phykophaein entsteht. Die Fucosanblasen stellen nach KYLIN nicht, wie HANSTEEN angibt, Körner dar, sondern Safträume, gefüllt mit einem Stoff, der mit Vanillinsalzsäure die erwähnte Reaktion gibt. Das Fucosan HANSTEENS ist, wie KYLIN (I, II) zu beweisen sucht, kein Kohlehydrat, sondern ein mit den Gerbstoffen verwandter Stoff. Es wäre aber auch denkbar, daß vielleicht in den Fucosanblasen, entsprechend der Ansicht von HANSTEEN, neben dem Gerbstoff doch auch ein Kohlehydrat vorhanden ist, dessen Nachweis aber vorläufig lokal nicht möglich ist.

3. Fetttropfen. Da von REINKE (I) und HANSEN (I) angenommen wurde, daß Fett das erste Assimilationsprodukt der Fucoideen sei, erscheint es von Wichtigkeit, daß sich die Fetttropfen nicht in kräftig assimilierenden Zellen, sondern in anderen, z. B. in den Zellen des Speichergewebes bei Fucus vesiculosus vorfinden. KYLIN gelangt durch seine Versuche zu der Ansicht, daß weder Fett noch das Fucosan erste Assimilationsprodukte der Fucoideen darstellen, sondern von ihm nachgewiesene Zuckerarten (Dextrose, Lävulose). Außerdem konnte KYLIN

(I, 186) ein dextrinartiges Polysaccharid (Laminarin) aus Fucoideen gewinnen, das durch Kondensation der Dextrose entstanden ist und physiologisch der Stärke höherer Pflanzen entspricht.

Wie aus der Literaturübersicht zu ersehen ist, läßt die ganze Frage der Inhaltsstoffe der Fucoideen an Widersprüchen nichts zu wünschen übrig. Ein und derselbe Stoff wird bald als Fett, Eiweiß, Gerbstoff oder als Kohlehydrat bezeichnet, ein Zustand, der so deutlich zeigt, wie sehr unsere Methoden noch der Vervollkommnung bedürfen. Sollte Kylin recht behalten, so hätten wir in den Fucosanblasen eigentlich Behälter eines gerbstoffartigen Stoffes zu erblicken; dem steht aber eine ältere Angabe Kocus (I), die sich auf eine makrochemische Untersuchung stützt, entgegen, wonach der Stoff, der die Rotfärbung mit Vanillinsalzsäure gibt, die Eigenschaft eines kolloidalen, mit einem stickstoffhaltigen Atomkomplex verbundenen Polysaccharids besitzt. Für die Gerbstoffnatur spricht auch nicht gerade der Umstand, daß die Fucosanblasen sich mit Eisenchlorid weder blau noch grün, sondern braun färben.

9. Das Leukosin.

Mit diesem Namen hat Klebs (II, 395) eine weiße, stark lichtbrechende Substanz bezeichnet, die sich bei Chrysomonadinen vorfindet und die vielleicht die hier fehlenden Paramylum- und Stärkekörner zu vertreten hat. Über seine chemische Natur weiß man so gut wie nichts. Das Leukosin ist in Wasser löslich, verschwindet in den bekannten Fixierungs- und Fällungsmitteln wie Alkohol, Osmiumsäure, Pikrinsäure, Sublimat, saurem chromsauren Kali und Tannin, ebenso auch in Säuren, Alkalien und überhaupt in Mitteln, die ein Absterben der Zelle herbeiführen. Es färbt sich nicht mit Farbstoffen. Das Leukosin tritt entweder in einzelnen Tröpfchen auf, oder es füllt, wie bei Microglena, den größeren Teil des Körpers aus und erscheint gewöhnlich am Hinterende der Zelle. Ob das Leukosin mit der Assimilation der Chromatophoren in naher Beziehung steht, läßt sich vorläufig nicht sagen. H. Meyer, der sich mit dem Leukosin bei Ochromonas beschäftigt hat, fand, daß es sowohl im Lichte wie im Finstern entsteht, und hält es, weil es sich nur in stickstofffreien Kulturen (Traubenzucker, Rohrzucker, Maltose, Kartoffeln) bildet, für ein Kohlehydrat. Ich für meinen Teil möchte mich, bevor wir über das Leukosin nicht mehr wissen, einer bestimmten Äußerung über die chemische Natur dieses Stoffes enthalten.

10. Die Zellulosekörner.

Weber van Bosse (I) beobachtete in den Zellen der parasitisch in der Urticacee Pilea lebenden Alge Phytophysa Treubii geschichtete, einfache oder zusammengesetzte Körnchen und nannte sie Zellulosekörner, weil sie in ihrem Verhalten zu Jodlösungen mit Zellulose übereinstimmen. Sie geben die Zellulosereaktion mit Jod und Schwefelsäure und mit Chlorzinkjod, sind doppelbrechend und zeigen im polarisierten Lichte die gleiche Orientierung der optischen Achsen wie Stärkekörner. Während der Sporenbildung werden die Zellulosekörner großenteils aufgelöst, auch zeigen sie eine Beziehung zum Auf- und Abbau des

Öls, insofern sich in ölreichen Zellen wenig und in ölarmen Zellen viel Zellulosekörner befinden. Sie scheinen also die Rolle eines Reservestoffes zu spielen.

11. Die Zellulinkörner.

Die Schläuche und Oogonien der Saprolegnien enthalten, bald einzeln, bald zu kleineren oder größeren Gruppen vereinigt, Körner, die man nach dem Vorschlage Pringsheims (II, 288), dem Entdecker dieser Gebilde, als Zellulinkörner bezeichnet. In jungem Zustande stellen sie flache, scheibenförmige oder abgerundet-polyedrische Plättchen aus einer homogenen Substanz von graublauem oder bläulich-weißen Farbenton dar. Die größeren Körner haben Kugelform und zeigen einen Kern und deutliche Schichtung (Fig. 129).

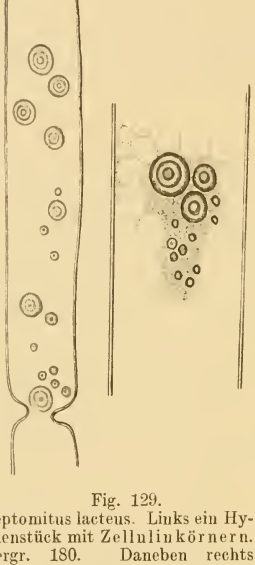


Fig. 129.
Leptomitus lacteus. Links ein Hyphenstück mit Zellulinkörnern. Vergr. 180. Daneben rechts ein Teil davon stärker vergrößert, mit großen und kleinen Körnern. Vergr. 350.

Chemische und physikalische Eigenschaften. Sie lösen sich in den gebräuchlichen Lösungsmitteln der Fette und Harze nicht. Sie färben sich mit Jod überhaupt nicht, auch nicht blau, geben nicht die Eiweißreaktion und speichern keine Farbstoffe. — Kaustische Alkalien, besonders konzentrierte Kalilauge, lassen sie in der Kälte so ziemlich unverändert, bei langer Einwirkung wird höchstens die Schichtung etwas deutlicher. Bei längerem Kochen in Kalilauge werden sie blasser und unscheinbarer. Auch konzentrierte und verdünnte Salpeter-, Salzsäure und Schulzesche Mischung scheinen eine geringe Einwirkung auszuüben, selbst wenn man einige Zeit erwärmt. In Kupferoxydammoniak sind sie ebenfalls unlöslich. Hingegen lösen sie sich in mäßig konzentrierter Schwefelsäure (1:1) oder in wässerigem, nicht zu verdünntem Chlorzinkjod rasch vollständig auf.

Auf Grund dieser Eigenschaften hält Pringsheim die beschriebenen Körner für eine Modifikation der Zellulose, der er den Namen Zellulin gibt.

Schaarschmidt (I) hat in Vaucheria sessilis, V. geminata und Chara foetida Zellhautverdickungen beobachtet, die er als Zellulinkörner bezeichnen zu müssen glaubt, aber die Beschreibung, die er von den Verdickungen entwirft, sprechen schon gegen die Ansicht, daß es sich hier um Zellulinkörner handelt. Eine der hervorstechendsten Eigenschaften der Zellulinkörner ist ihr rasches Verschwinden in Chlorzinkjod und Schwefelsäure. Diese Eigenschaft zeigen aber die Verdickungen von Vaucheria und Chara nicht; auch nehmen diese relativ leicht Farbstoffe, z. B. Nigrosin, auf, im Gegensatz zu den Zellulinkörnern. Die

von Schaarschmidt beschriebenen Zellhautverdickungen treten in abnormen Kulturen auf, sind also pathologische Bildungen, während die Zellulinkörner der Saprolegnien ganz normale Inhaltskörper sind. Ich glaube daher, daß die Vaucheria- und Charazellhautverdickungen den Namen Zellulinkörner nicht verdienen.

12. Die Fibrosinkörper.

In den Sporen (Konidien) des auf dem Weißdorn häufigen Mehltaupilzes (Podosphaera oxyacanthae DC.) und anderer Erysipheen entdeckte Zopf (I) eigentümliche Körperchen, die er für ein Kohlehydrat hält und wegen seiner Verwandtschaft mit Fremys Fibrose als Fibrosinkörper bezeichnet (Fig. 130).

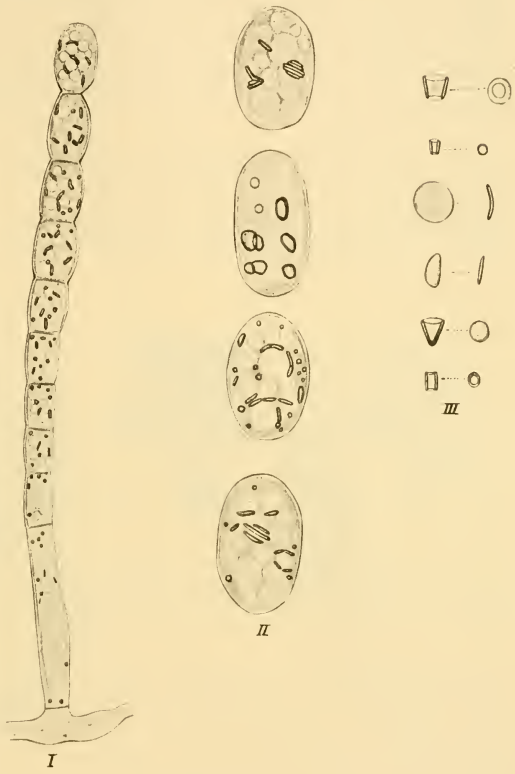


Fig. 130.
Podosphaera oxyacanthae. Fibrosinkörper.
I. Konidienreihe. Die dunkeln Pünktchen und Strichelchen sind Fibrosinkörper. Vergr. 450.
II. 4 einzelne reife Konidien mit ausgebildeten Fibrosinkörpern. Vergr. 690.
III. Formen des Fibrosins in verschiedenen Ansichten. Vergr. 1000. Nach Zopf.

Sie liegen in reifen Konidien stets im Plasma, und zwar zu 5 bis 15 an der Zahl. Durch einen auf das Deckglas ausgeübten Druck lassen sie sich leicht aus der Zelle befreien. Sie haben die Form einer Scheibe, eines Hohlkegels, Hohlkegelstutzes oder eines Hohlzylinders. Ihr Durchmesser schwankt zwischen 2 bis 8 μ und ihre Dicke zwischen 0,5 bis 0,7 μ. Sie zeigen keine Struktur und sind optisch negativ. Die Fibrosin-

körper quellen etwas in siedendem Wasser. Mit Jodlösung oder Chlorzinkjod färben sie sich nicht. Sie sind schwer löslich in konzentrierter Schwefelsäure, unlöslich in Salpetersäure, Kupferoxydammoniak, Alkohol, Äther und Chloroform. Anilinfarbstoffe werden nicht gespeichert, durch Osmiumsäure werden sie nicht gebräunt. Da die Fibrosinkörper bei der Keimung der Sporen aufgelöst werden, scheinen sie als Reservestoff zu fungieren. Zopf (I, 278) glaubt eine Verwandtschaft mit der sogenannten Pilzzellulose annehmen zu sollen, es wäre daher zu prüfen, ob die Fibrosinkörner nicht vielleicht aus Chitin bestehen.

13. Die Elaeoplasten und Ölkörper.

a) Monokotyle.

Elaeoplast oder Ölbildner nannte Wakker (II, 475) ein in der Epidermis der jungen Blätter von Vanilla planifolia vorkommendes

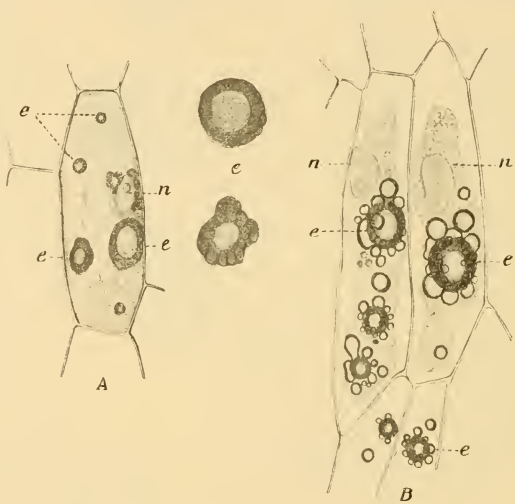


Fig. 131.
Elaeoplasten *e* in den Epidermiszellen der jungen Frucht von Ornithogalum Boucheanum.
A. Große und kleine Elaeoplasten *e* in der lebenden Zelle. Daneben rechts zwei Elaeoplasten stärker vergrößert. *n* Zellkern. Vergr. 180.
B. Nach Behandlung mit Alkohol treten Öltropfen aus dem Elaeoplasten *e* heraus. *n* Zellkern. Vergr. 180.

Gewebe, das aus einer plasmatischen Grundlage und Öl besteht. Die Oberhautzellen führen einen Zellkern, rings um diesen zahlreiche Leukoplasten und außerdem, dem Zellkern entweder dicht angeschmiegt oder an einem anderen Orte, den Elaeoplasten. Er ist etwas größer als der Zellkern, meist etwa 8 bis 12 μ breit, besitzt scharfe Umrisse und einen gelblichen, vielleicht durch das Öl hervorgerufenen Glanz.

Bei Behandlung mit konzentrierter Pikrinsäure bleibt der Elaeoplast erhalten, das Öl tritt aus und bleibt in nächster Nähe liegen. Eisessig oder Schwefelsäure treiben das Öl gleichfalls aus. Das Öl löst sich in Alkohol und Kalilauge, wird durch Alkannatinktur und Cyanin intensiv rot bzw. blau und durch Osmiumsäure dunkelbraun bis schwarz gefärbt. In den Schließzellen der Spaltöffnungen kommen mehrere, aber viel kleinere Elaeoplasten vor. In den alten Blättern fehlen sie. Bei jungen Wurzeln und Stengeln können sie in den oberflächlich gelegenen Zellen gleichfalls auftreten.

Später hat Zimmermann (II, 185; V, 165) Elaeoplasten auch bei einigen anderen Monokotylen nachzuweisen vermocht: Funkia lancifolia, F. coerulea, F. Sieboldiana, Dracaena sp., Ornithogalum scilloides, Agave americana, A. mitis, Oncidium suave, Maxillaria picta, Bechorneria bracteata und im Stengel eines Pteridophyten, nämlich von Psilotum. Raciborski (I) hat die Elaeoplasten verschiedener Ornithogalum-, Albuca-, Funkia- und Gagea-Arten beschrieben. Elaeoplasten wurden von Politis (I) bei 22 monokotylen Familien und auch bei dicotylen (Malvaceen) nachgewiesen. Immerhin erscheint ihre Verbreitung beschränkt. Bei Funkia, Dracaena und Ornithogalum (Fig. 131) kommen sie in der Blütenregion (Perianth, Fruchtknoten), aber nicht in den Laubblättern vor. Meistens birgt jede Zelle nur einen Elaeoplasten, bei Ornithogalum aber mehrere. Die Gestalt der Elaeoplasten ist verschieden: kugelig, traubenförmig, plasmodienartig, unregelmäßig gelappt. Bezüglich des Baues und der chemischen Eigenschaften konnte Zimmermann die Angaben Wakkers bestätigen. Die Entstehung der Elaeoplasten hat Raciborski bei Ornithogalum umbellatum verfolgt. Hier treten sie als stark lichtbrechende Kügelchen auf, die immer am Pole des länglichen Zellkerns liegen. Sie vermehren sich durch Neubildung aus dem Cytoplasma, selten durch Knospung oder durch Teilung. Nach Meyer (VII, 286) dienen die Elaeoplasten als Bau- oder Reservestoff.

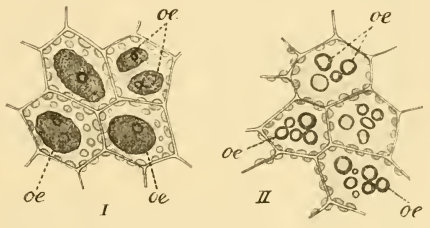


Fig. 132.
I. 4 Zellen aus dem Blatte von Radula complanata mit großen Ölkörpern *oe*. Vergr. 350.
II. 4 Zellen aus dem Blatte von Frullania dilatata. In jeder Zelle mehrere kleine Ölkörper *oe*. Vergr. 350.

b) Lebermoose.

Die meisten beblätterten Lebermoose enthalten in den Blattzellen ölartige Inhaltskörper, die bereits von Gottsche bemerkt, aber erst von Pfeffer (I, 1), Wakker, Garjeanne (I), Meyer (VII, 350) und Küster (I) genauer untersucht worden sind. Sie sehen bald wie Öltropfen, bald wie aus Öltropfen bestehende emulsionsartige Massen, bald wie eiförmige, ellipsoidische oder zusammengesetzten Stärke-

körnern ähnliche Gebilde aus (Fig. 132). Sehr groß sind sie, abgesehen von den Marchantiaceen, wo sie gleichfalls vorkommen, bei Radula complanata und bei Alicularia scalaris. Sie erreichen hier bis 20 μ. Wenn man zu einem Blatt von Radula complanata verdünnten Alkohol (1 Teil Alkohol, 2 bis 3 Teile Wasser) unter Deckglas treten läßt, so fließen die einzelnen Tröpfchen, aus denen der emulsionsartige Ölkörper besteht, rasch zu einem großen Tropfen zusammen, wobei eine membranartige, aus Eiweiß bestehende Substanz übrig bleibt. Diese Tropfen lösen sich leicht in Weingeist, Benzol, Äther und Schwefelkohlenstoff. Beim Kochen verschwinden sie nicht. Pfeffer ist auf Grund dieser und einiger anderer Eigenschaften der Ansicht, daß die Ölkörper der Hauptmasse nach aus einem Gemenge von fettem Öl und Wasser bestehen, von Wasser deshalb, weil sie sich in Wasser entziehenden Mitteln zusammenziehen und auch ihre Form ändern. Dagegen sprechen aber die makrochemischen Beobachtungen Lohmanns (1) über die Ölkörper von Mastigobryum, wonach diese der Hauptsache nach aus einem Gemisch ätherischer Öle bestehen.

Die verhältnismäßig großen Ölkörper der Marchantiaceen haben ein emulsionsartiges Aussehen und bei Fegatella conica sowie bei Marchantia eine bräunliche und bei Lunularia eine dunkel-braunrote Farbe. In ihrem Verhalten gegen Reagentien gleichen die Ölkörper von Fegatella, Marchantia und Preissia commutata denen von Radula complanata. Die gedrückten Ölkörper von Lunularia geben mit Eisenvitriol eine schwarzblaue und mit Kaliumbichromat eine rotbraune Färbung, was für Gerbstoff spricht.

Wakker (II, 482) hat die Ölkörper gleichfalls mikrochemisch untersucht und kommt zu demselben Resultate wie Pfeffer. Er konstatierte auch die membranartige Hülle, hält sie aber für plasmatisch und zählt daher die Ölkörper der Lebermoose zu den Elaeoplasten. Nach Pfeffer (I, 33) entstehen die Ölkörper an beliebigen Stellen der Zellflüssigkeit aus Öltröpfchen. Dieser Auffassung stimmt auch Kozlowski (1) zu. Haben die Ölkörper eine plasmatische Grundlage, wie es Wakker behauptet, so möchte man nach anderweitigen Erfahrungen glauben, daß sie unter Vermittelung plasmatischer Gebilde entstehen, aber bewiesen wurde dies bisher nicht. Bei Scapania, wo Wakker die Entwicklungsgeschichte verfolgte, treten sie „ziemlich plötzlich als schlauchförmige, scharfumgrenzte Organe auf", in denen noch kein Öl zu sehen ist. Eine klare Einsicht in die Entwicklung der Ölkörper ist aus den Untersuchungen Wakkers, wie er selbst zugibt, nicht zu gewinnen; er hält es für wahrscheinlich, daß die Elaeoplasten der Lebermoose metamorphosierte Chlorophyllkörner sind, eine Ansicht, die gerade nicht sehr plausibel erscheint. Küster glaubt, daß zuerst das Stroma als unregelmäßig konturiertes Gebilde entsteht, in dem später die Öltröpfchen auftauchen. Die Beobachtungen gehen in wichtigen Punkten noch auseinander; sogar über die Existenz der Hüllhaut der Ölkörper herrscht noch keine Einigkeit, denn Küster hält sie im Gegensatz zu Pfeffer und Wakker für eine Gerinnungsmembran, hervorgerufen durch die Reagentien, also für ein Kunstprodukt. Meyer (VII, 352) bestreitet sogar die Gerinnungsmembran. Das, was den Beobachtern als Hülle erschien, ist nach ihm nur das fixierte Zytoplasma. Physiologisch dürften die Ölkörper wohl als Exkrete

aufzufassen sein, denen vielleicht eine ökologische Rolle zufällt, als Schutzmittel gegen Schneckenfraß im Sinne von Stahl (I, 49) oder als Lichtschirm gegen allzustarke Beleuchtung, wie bei den blauen Ölkörpern von Calypogeia Trichomanis (Hieronymus I, 468).

c) Ölkörper anderer Pflanzen und Verwandtes.

Radlkofer (I, II), Monteverde (I), Solereder (I), Sertorius (I, 505) und Lidforss (II) haben im Schwamm- und Palisadenparenchym zahlreicher Arten aus den Familien der Cordiaceen, Combretaceen, Cinchoneen, Sapotaceen, Sapindaceen, Gramineen, Gaertneraceen, Rubiaceen und Cornaceen Öl- oder Fettkugeln, meist je eine in einer Zelle, nachgewiesen. Sie liegen nach Monteverde im Plasma, geben im allgemeinen die Reaktionen der Fette, sind meist isotrop, bei manchen Pflanzen, wie z. B. bei Gaertnera und Pagamea (Solereder I, 85) auch doppelbrechend.

Erwähnt seien ferner noch die von Schütt (I) im Plasma der Peridineen beobachteten „Fettplatten", die im Gegensatz zu den Chromatophoren kein Chlorophyll führen und sich mit Osmiumsäure färben. Sie bilden kleine rundliche Plättchen oder größere Täfelchen mit buchtig lappiger Begrenzung. Sie sollen aus kleinen farblosen Plättchen hervorgehen, die Schütt als „Fettbildner" oder „Plastiden" bezeichnet.

Die von Lundström (I) bei Potamogeton-Arten beschriebenen Ölplastiden gehören nicht hierher, da sie nicht aus Fett, sondern wahrscheinlich aus einem aromatischen Aldehyd bestehen (Lidforss I), vgl. p. 158.

Die von Berthold als Lichtschutzorgane beschriebenen kirschförmigen Inhaltskörper verschiedener Florideen sollen nach Hansen aus Glykogen bestehen, nach Golenkin (I) aber echte Elaeoplasten sein. Wenn sie es wären, müßte nach Auflösung des Öls die plasmatische Grundlage zurückbleiben. Dies ist aber nicht der Fall, denn die fraglichen Körper lösen sich in 50proz. Alkohol sofort ohne Rückstand auf. Ich glaube daher, daß auch Golenkins Angaben einer Nachprüfung bedürfen.

14. Die Filargebilde der Moose.

Von Boresch (I, II) wurden eigenartige netz- und fadenförmige Gebilde, die schon während des Lebens ohne jede weitere Präparation und bereits bei mittlerer Vergrößerung sichtbar sind, besonders in den Blattzellen der Moose nachgewiesen und eingehender bei Fontinalis antipyretica und Funaria hygrometrica studiert. Sehr schön gelangen diese Gebilde, die ich kurz als Filargebilde bezeichnen will, in den größeren und älteren Blättern, und zwar in den beiderseits am Blattgrunde gelegenen Öhrchen, zur Ausbildung. Sie stellen hier ziemlich dichte Knäuel oder Strähne von vielfach verschlungenen Fäden dar. Gewöhnlich findet sich in jeder Zelle des Blattöhrchens ein einziger Knäuel, der meist einer Längswand anliegt oder den Saftraum quer durchsetzt oder wie die Spinne im Netz aufgehängt erscheint.

Die Fäden bestehen der Hauptmasse nach aus Fett (Boresch I, 154).

Ähnliche Fäden und Netzstrukturen waren bereits in den Blattzellen von Funaria hygrometrica durch mehrere Forscher, so von Senn,

Knoll, Linsbauer und Abranovicz (Liter. bei Boresch I, 102) beschrieben worden.

Die Fadenbildungen sämtlicher untersuchter Laub- und Lebermoose erscheinen gleichförmig homogen oder mit kleinen, stark lichtbrechenden Tröpfchen besetzt, ändern beständig ihre Form, Lage und Sichtbarkeit und zerfallen, wenn man gewisse Stoffe (Chinin, Alkohol, Azeton, Äther, Chloroform usw.) diosmieren läßt, nach Durchlaufen charakteristischer Zwischenstufen (Myelinformen, Fadenstücke, Schleifen und Ringe) schließlich in feine, meist mikroskopisch sichtbare Tröpfchen, die lebhafte Brownsche Molekularbewegung zeigen. Wird der wirksame Körper durch Auswässern beseitigt, so bilden sich die Fäden auf Kosten der verschwindenden Tröpfchen wieder zurück, ohne daß die Zellen dabei anhaltend geschädigt wurden. Die beschriebenen Vorgänge sind also intra vitam reversibel.

15. Die irisierenden Platten und Kugeln in Meeresalgen.

Verschiedene lebende Braun- und Rotalgen glänzen bei starker Beleuchtung in den brillantesten Farben, am schönsten die Chylocladia-

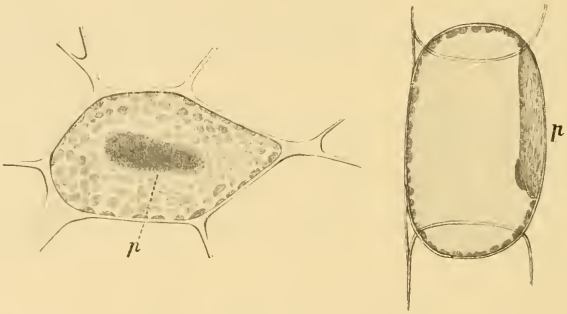


Fig. 135.
Chylocladia reflexa. Zelle links mit einer zentral gelagerten irisierenden Platte *p* in der Flächenansicht. Rechts dasselbe in der Seitenansicht. *p* im Profil. Nach Berthold (II).

Arten. Die einen schimmern in blauen, die anderen in silberweißen, in rötlich-weißen oder in den verschiedenen Regenbogenfarben. Die Ursache dieser Reflexerscheinung ist, wie Berthold (II, 569) entdeckt hat, ein stark lichtbrechender Inhaltskörper von eigenartiger Struktur. Bei Chylocladia besteht er aus einer schwach gelblich gefärbten, gegen das Cytoplasma scharf abgesetzten Masse, in der sehr kleine Kügelchen eingebettet sind (Fig. 133, I). Im Profil zeigt die Masse einen eigentümlichen Schimmer und eine Streifung parallel ihrer Flächenausdehnung (Fig. 133, II). Die Platten kommen nicht in allen Zellen vor. Sie fehlen namentlich im Innern der Rasen und den zwischen anderen Algen verborgenen Thallomzweigen. Am Rücken dieser sind die Platten der freien Außenseite angelagert, im allgemeinen stellen

sie sich alle ungefähr parallel dem stärksten einfallenden Lichte entgegen. Da sie eine bestimmte Stellung haben, so tritt der Farbenglanz auch nur am schönsten hervor, wenn man die Algen von einer bestimmten Seite betrachtet. Ihre Funktion besteht in der Abwehr allzu starken Lichtes und in der Zerstreuung des Lichtes nach verschiedenen Richtungen, um eine möglichst gleichmäßige Beleuchtung zu erzielen (Berthold).

Läßt man destilliertes Wasser auf die Platten einwirken, so werden die darin liegenden Kügelchen undeutlich und schließlich durch Vakuolen ersetzt. Jod färbt die Platten braun, Osmiumsäure schwärzlich. Durch Jod, Osmiumsäure und Sublimat werden die Platten unlöslich. Daraus schließt Berthold auf ihre Eiweißnatur.

Faber (I) hat die irisierenden Körper von Nitophyllum sp. und Taenionema sp. aus Java untersucht und hat gleichfalls gefunden, daß sie aus einem eiweißartigen Stroma bestehen, in dem unter Einfluß intensiven Lichtes Kügelchen einer chemisch noch nicht definierbaren Substanz auftreten. Diese Kügelchen werden in heißem Wasser rasch gelöst und in Jodmeerwasser schwärzlich gefärbt. Sie sind die eigentliche Ursache des Irisierens, verschwinden im diffusen Lichte und erscheinen im intensiven wieder.

Es wäre aber wünschenswert, noch weitere mikrochemische Untersuchungen anzustellen, um die Proteïnnatur der irisierenden Platten zu erhärten, um so mehr, als Wakker (II, 488) die nach Berthold als Lichtreflektoren dienenden Inhaltskörper von Laurencia obtusa und Plocamium coccineum ihren Reaktionen nach als Elaeoplasten anzusprechen geneigt ist. Es wäre ja auch möglich, daß die bei verschiedenen Florideen und Phaeophyceen lichtreflektierenden Inhaltskörper chemisch überhaupt nicht einheitlicher Natur sind. Dieser Punkt erfordert genauere Untersuchungen.

16. Der Augenfleck.

Bei verschiedenen niederen Organismen bemerkt man gegen das Cytoplasma scharf abgesetzte rötliche oder bräunliche Punkte, die besondere Organe der Zelle darzustellen scheinen. Man nennt dieses Organ Stigma oder Augenfleck. In der Regel kommt es nur bei chlorophyllhaltigen Organismen vor. Indem ich bezüglich des Vorkommens und gewisser Eigenschaften des Augenfleckes auf das Sammelreferat von Zimmermann (V, 161) verweise, sei hier nur folgendes hervorgehoben. Overton (I, 65) fand sie bei allen phototaktisch reizbaren Schwärmsporen der grünen Algen (Bulbochaete, Ulothrix, Draparnaldia, Stigeoclonium, Conferva, Microspora usw.). Bei den Volvocineen, Chlamydomonaden (Wollenweber I), zahlreichen Flagellaten und anderen niederen Lebewesen sind Stigmata nachgewiesen worden. Gewöhnlich in der Einzahl, doch kommen nach Francé (I, 142) bei Microglena konstant zwei und bei Uroglena meist drei vor. Scherfell (I) fand bei einer Bulbochaetezoospore vier und bei einer nicht näher bestimmten Chlamydomonas-Zelle zwei Stigmen. Die von verschiedener Seite gemachte Angabe, daß Synura und Syncrypta Augenflecke besitzen, wird von Scherfell (II) bestritten. Rote Tröpfchen haben hier Stigmen vorgetäuscht.

Die Stigmen sind nicht immer gleich; bei Pandorina morum finden sich in den Zellen des einen Pols auffallend große, in dem entgegen-

gesetzten Pol gar keine und dazwischen mäßig große Augenpunkte. Die Gestalt ist verschieden, meist scheibenförmig.

Der Augenfleck der Euglenen (Fig. 134) besteht nach Klebs (I, 260) analog wie ein Chromatophor aus zweierlei Substanzen, aus einer plasmatischen Grundmasse, die ein feines Netzwerk bildet, und einem Farbstoff, der die Maschen des Netzes ausfüllt. Die Farbe des Pigments schwankt zwischen hell- und dunkelrot. Es ist löslich in Alkohol, Äther, Benzin und Schwefelkohlenstoff, färbt sich mit Jod schmutzig grün, mit Eisenchlorid schwarzblau, wird durch konzentrierte Schwefelsäure dunkelindigblau, durch Salpetersäure himmelblau und ist daher als ein karotinartiger Stoff (vgl. p. 254) zu bezeichnen (Kohl I, 15). Die roten Stigmata anderer Organismen verhalten sich gegenüber Schwefelsäure ebenso, desgleichen, wie ich mich überzeugt habe, das Stigma der Spermatozoiden von Fucus. In den Stigmata der Euglenaideen sollen nach Francé (I, 145) Paramylumkörner, in denen der Chlamydomonaden und Volvocineen Stärkekörner vorkommen, die zur Lichtkonzentration dienen sollen. Die physiologische Bedeutung der Augenflecke ist vorläufig noch strittig. Sie sollen bei der Lichtempfindung eine Rolle spielen.

Fig. 134. Euglena sp. mit rotem Augenfleck *s*. Vergr. 350.

17. Sogenannte Schleimvakuolen.

Im peripheren Teil vieler Phykochromaceen finden sich, abgesehen von Eiweißkristalloiden oder Cyanophycinkörnern (Fischer I, 113), verschieden große Kügelchen einer anscheinend zähflüssigen Substanz, die als Schleimvakuolen bezeichnet werden. Äußerlich sind sie nur schwer von den Cyanophycinkörnern und den körnigen Einschlüssen des Zentralkörpers zu unterscheiden. Das ist der Hauptgrund, warum über die körnigen Bildungen der Cyanophyceenzelle so große Verwirrung herrscht. Hegler (I, 308) unterscheidet die Eiweißkristalloide von den Schleimkugeln:

1. Durch ihre intensiv blauschwarze Färbung mit Methylenblau und Methylviolett in lebenden Zellen;
2. durch ihre Nichtfärbbarkeit mit S-Fuchsin und Essigkarmin;
3. durch ihre rote bzw. rotviolette Tinktion mit verdünntem, saurem Hämatoxylin;
4. durch ihre Reaktion mit Vanillinsalzsäure;
5. durch ihre Konsistenz;
6. durch ihr Verhalten gegen Osmiumsäuregemische.

Bei Anwendung von Vanillinsalzsäure färben sie sich intensiv hellrot bis violettrot, was vielleicht auf Phloroglucin oder eine verwandte Substanz deutet. Hegler nimmt jedoch von dieser Deutung Abstand und glaubt, daß es sich um einen eiweißähnlichen Schleimstoff handelt. Die Mikrochemie der körnigen Bildungen in der Cyanophyceenzelle gehört zu den unerfreulichsten Erscheinungen der Literatur, hauptsächlich, weil man auf Grund einer vieldeutigen Reaktion oder einer Färbung gleich einen bestimmten Körper nachzuweisen vermeint, anstatt sich vorläufig mit einem „ignoro“ zu bescheiden.

Schleime nachzuweisen ist an und für sich oft recht schwer, um wieviel mehr erst bei so außerordentlich winzigen Körnchen der Cyanophyceenzelle!

Radlkofer und Fellerer (I) beobachteten bei verschiedenen Begonia-Arten eigenartige, unverkalkten Doppelcystolithen der Cucurbitaceen ähnliche Bildungen, die sich hauptsächlich aus geschichteten, öfters mit Harz infiltrierten Schleimen aufbauen, und ferner Sekretkugeln, die angeblich aus Harz bestehen. Obwohl sie strenge nicht hierher gehören, seien sie doch im Anhange zu den Schleimvakuolen erwähnt.

18. Die Gerbstoffblasen.

Bei zahlreichen Zygnemaceen treten in allen Zellen zahlreiche glänzende Bläschen auf, die in Alkohol und Äther rasch verschwinden, zwar wie Fetttröpfchen aussehen, aber doch nicht aus Fett, sondern aus Gerbstoff bestehen (Fig. 135). Pringsheim (III, 354) glaubt, daß die Bläschen vom Chromatophor gebildet, sezerniert und schließlich ins Plasma geführt werden. Sie bestehen aus einer Hülle, einem vorwiegend Gerbstoff führenden Inhalt und werden daher von Pringsheim (III, 355) als Gerbstoffbläschen bezeichnet. Sie werden leicht zerstört. Störungen, die den Tod der Zelle herbeiführen, vernichten sie, wobei sich ihr Inhalt mit dem Zellinhalt mischt.

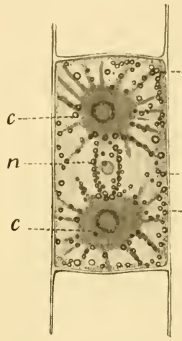


Fig. 135. Gerbstoffbläschen *g* in der Zelle von Zygnema in Form zahlreicher Kügelchen zerstreut. *c* sternartiger Chromatophor, *n* Kern. Vergr. 350.

Gerbstoff kommt in besonderen Behältern, in sogenannten Gerbstoffvakuolen, auch bei Phanerogamen gar nicht so selten vor (Klercker I). Während sie aber bei den Zygnemaceen gewöhnlich sehr klein und zahlreich sind, treten sie bei den Blütenpflanzen meist in geringer Zahl und in bedeutenderer Größe auf. Die Gerbstoffvakuolen bestehen nach Klercker aus einer plasmatischen Hülle und aus einem stark lichtbrechenden Inhalt, der vorzugsweise aus Gerbstoff, aber nicht aus Eiweiß besteht. Sie entstehen im Plasma zuerst in Form fester Körnchen, die sich später in eine Vakuole umwandeln. Ihr Nachweis gelingt am besten durch Lebendfärbung mit Methylenblau (vgl. p. 175). Beispiele: Zygnemaceen, Wurzelhaube von Pistia Stratiotes, Blattstielgelenke von Desmanthus plenus, von Mimosa-Arten und Oxalideen (vgl. p. 149).

Erwähnt seien noch die gerbstoffähnlichen Tröpfchen, die Wallin (I) im Zellsafte der Strangscheiden von Bromeliaceenblättern beobachtet hat. Ihre Besonderheit bestände darin, daß hier ein Gerbstoff weder im Zellsaft gelöst, noch in Vakuolen auftritt, sondern als im Zellsaft ausgeschiedene Tropfen erscheint.

19. Volutin.

Vorkommen.

Meyer (V, VI, VII) hat zunächst in Bakterien einen meist in Form von Klümpchen auftretenden Reservestoff gefunden, dem er den Namen Volutin gegeben hat.

Dieser von Meyer und seinem Schüler Grimme (I) genauer beschriebene Körper ist ziemlich weit verbreitet und wurde später auch bei Blaualgen, Euglenen, Diatomeen, Volvocaceen, Phaeophyceen, Rhodophyceen, Ascomyceten, Saccharomyceten, Beggiatoa-Arten, Basidiomyceten, Ustilagineen, Zygomyceten u. a. nachgewiesen.

Eigenschaften und Nachweis. Das Volutin bildet kleine farblose, amorphe Massen von stärkerer Lichtbrechung als das Plasma. Sie sind zähflüssig oder steifbreiig, wie man sich z. B. an den großen, aus der Zelle herausgequetschten Volutinkörnern von Spirillum volutans überzeugen kann, und erscheinen zwischen gekreuzten Nikols niemals hell. Seltener stellen sie einfache, doppelbrechende (Amphora ovalis, Cymbella gastroides) oder verwachsene Sphärite mit höckeriger Oberfläche dar (Navicula-Arten usw.). Die Volutinkörner treten in der Zelle in der Ein- oder Mehrzahl auf, sie sind unregelmäßig zerstreut, in einer Reihe oder polar angeordnet in zylindrischen Zellen. Ihre Größe schwankt zwischen 0,2 bis 6 μ.

Wasser. Bei 80° lösen sie sich schon nach 5 Minuten, im siedenden noch schneller. Nach Vorbehandlung mit absolutem Alkohol wird das Volutin schwer löslich und nach der mit Formol (5 Minuten) löst es sich auch in siedendem Wasser nicht.

Konzentrierte Pikrinsäure fixiert Volutin und macht es für kaltes Wasser unlöslich.

Alkohol, Chloroform und Äther lösen nicht.

Alkalien (5proz. oder konzentrierte Natriumkarbonatlösung sowie Ätzkalilösung) lösen in 5 Minuten völlig.

Säuren (5proz. Schwefelsäure oder Salzsäure) lösen es nach 5 bis 10 Minuten, 1proz. erst nach 24 Stunden.

Konzentrierte Jodjodkaliumlösung färbt gelb. Gegen Trypsin und Pepsin verhält sich Volutin indifferent.

Millons Reagens, Rohrzuckerlösung + konzentrierte Schwefelsäure, Vanillinsalzsäure, Fehlings Lösung, Chlorzinkjod geben mit Volutin keine auffallenden Reaktionen.

Färbung. Verschiedene organische Farbstoffe färben das Volutin.

Methylenblau 1 + 10 (1 Vol. ges. Lösung von Ehrlichs Methylenblau + 10 Vol. Wasser) färbt rötlich-blau oder dunkelblau, wobei die Volutinkörner bedeutend aufquellen.

Methylenblau 1 + 10, dann 1proz. Schwefelsäure. Man färbt lebendes oder am Deckglas angetrocknetes und durch die Flamme gezogenes Material mit Methylenblau und saugt 1proz. Schwefelsäure unter dem Deckglas durch. Es wird dann alles entfärbt, nur das Volutin bleibt dunkelblau. Setzt man nach der Absaugung der Farblösung Jodjodkaliumlösung hinzu, so färbt sich der Protoplast braun und das Volutin schwarz. Rutheniumlösung (0,02 g Rutheniumrot in 10 ccm heißem Wasser frisch gelöst) färbt das Volutin intensiv rot. Bestimmtes läßt sich über die chemische Natur nach den aufgezählten Eigenschaften nicht aussagen, doch hält es Meyer (VI, 245) nach seinen gesamten Erfahrungen für wahrscheinlich, daß das Volutin eine Nukleïnsäureverbindung, jedoch kein Nukleoproteïd ist. Nach Zikes (I) hingegen ist das Volutin ein Eiweißstoff, der zu den Nukleoproteïden gehört, da sich darin sowohl Nukleïnbasen als auch Phosphorsäure vorfinden. Vollständige Klarheit wird wohl erst die Makroanalyse bringen.

20. Die künstlichen Fällungen.

Der Plasma- und Zellsaft stellt nicht selten eine recht konzentrierte Lösung gewisser Substanzen dar, und daher erscheint es begreiflich, daß bei starkem Welken, Eintrocknen oder bei Wasserentzug infolge plasmolysierender Mittel gelöste Stoffe in fester Form häufig ausgeschieden werden. Beispiele solcher Ausscheidungen (Zucker, Inulin, phosphorsaurer Kalk, Salpeter usw.) wurden bereits früher namhaft gemacht. Hier soll auch auf einige spezielle Fälle hingewiesen werden, wo auch intra vitam Ausscheidungen und Fällungen erzielt werden können, die ihrer chemischen Natur nach zumeist nicht bekannt sind, die aber in vielen Fällen aus Gerbstoffen und aus proteïnartigen Körpern bestehen.

Anthocyanhaltige Zellen, z. B. die Blatt-Epidermiszellen von Tradescantia discolor oder T. zebrina zeigen, wenn sie mit 10proz. Kochsalzlösung behandelt werden, rasch Plasmolyse, und nach einiger Zeit scheidet sich infolge des Wasserentzuges das Anthocyan in tief rotvioletten Kügelchen ab.

Schon auf p. 174 wurde bemerkt, daß Gerbstoffe sehr leicht durch Alkalikarbonate in Form kugeliger Gebilde gefällt werden. Bokorny (I) hat gezeigt, daß nicht nur die erwähnten Karbonate, sondern zahlreiche basisch reagierende Stoffe überhaupt dieselbe Reaktion geben: Ammoniak, Kali-, Natronlauge, Aminbasen, wie Mono-, Di-, Triäthylamin, Hydroxylamin, verschiedene Alkaloide, z. B. Strychnin, Chinin, Atropin, Veratrin, Chinolin, Coffeïn, desgleichen Antipyrin. Ein dankbares Objekt ist Spirogyra. Wird ein lebender Faden dieser Alge mit verdünnter Ammoniaklösung (1 bis $^1/_{200}$%) behandelt, so scheiden sich nach etwa 10 bis 20 Minuten im Zellinhalte zahlreiche kleine farblose Körnchen, Proteosomen genannt, aus, die im Plasma und Zellsaft liegen können. War die Verdünnung sehr groß, so entstehen die Körnchen, ohne daß das Leben der Alge aufhört. Durch Einlegen solcher Fäden in reines Wasser verschwinden die Körnchen, und die Zellen erscheinen wieder ganz normal. Bei Verwendung einer 5proz. Coffeïnlösung auf Spirogyra maxima oder orthospira entstehen im Zellsaft Hohlkugeln von relativ bedeutender Größe, bei Benutzung einer 0,5proz. viel kleinere. Die Befähigung, Proteosomen zu bilden, findet sich nicht bloß bei Algen, sondern auch bei höheren Pflanzen, z. B. bei Staubfäden von Eugenia und Melaleuca, jungen Blättern von Mimosa pudica, Nymphaea zanzibarensis, jungen Petalen von Drosera, Cyclamen, Tulipa usw. [Loew und Bokorny (I, 118)]. Schöne Dauerpräparate von Proteosomen gewinnt man, indem man die Objekte einen Tag in einer 0,5proz. Coffeïnlösung, ebensolange in einer 0,1proz. Ammoniaklösung liegen läßt, Fett und Chlorophyll durch Ätheralkohol auszieht, endlich in sehr verdünnter Methylgrünessigsäure färbt und in mit Essigsäure angesäuertem verdünnten Glyzerin einbettet [Loew und Bokorny (I, 118)].

Über die stoffliche Zusammensetzung der Proteosomen gehen die Ansichten recht weit auseinander. Loew und Bokorny sind der Ansicht, daß die Proteosomen aus „aktivem Eiweiß" bestehen, während Pfeffer (III) und Klemm (1) behaupten, daß sie sich aus Gerbstoff zusammensetzen. Der Nachweis der Eiweißnatur bei so

kleinen Kügelchen ist natürlich nicht leicht, doch gelingt nach Loew und Bokorny (I, 120) die Millonsche Reaktion nach Erwärmen leicht und ebenso auch die Biuretreaktion, wofern man nicht die frischen Proteosomen, die sich in Kalilauge leicht lösen, sondern die durch Ammoniak fixierten prüft. Klemm (I, 415) betrachtet die Eiweißnatur der Proteosomen als problematisch, hingegen den Gerbstoff in den meisten Fällen als den einzig sicher nachgewiesenen Körper. Klemm (II, 411) gibt aber zu, daß Proteosomenbildung bei Spirogyra auch in völlig gerbstofffreien Exemplaren eintritt. Es ist nicht leicht, zu entscheiden, auf welcher Seite die Wahrheit liegt, bevor nicht durch genaue mikrochemische Untersuchungen festgestellt sein wird, ob die Proteosomen verschiedener Pflanzen überhaupt einheitlicher Natur sind. S. p. 176.

Silberabscheidung. 1881 entdeckten Loew und Bokorny (II) die interessante Tatsache, daß in lebenden Pflanzenzellen aus verdünnter, schwach alkalischer Silberlösung Silber reduziert wird. Sie verwendeten hauptsächlich zwei Lösungen (A und B).

Lösung A besteht aus einer mit Kali versetzten ammoniakalischen Silberlösung, die hergestellt wird, indem man erstens 13 ccm Kalilösung von 1,33 spez. Gew. (Gehalt 33½% KOH) mit 10 ccm Ammoniakliquor von 0,96 spez. Gew. (Gehalt 9% NH_3) mengt und auf 100 ccm verdünnt, und zweitens eine Lösung von 1% Silbernitrat bereitet. Je 1 ccm beider Lösungen werden vor dem Gebrauch gemischt und die Mischung auf 1 Liter verdünnt.

Lösung B stellt eine wässerige Lösung von Silberoxyd dar und wird bereitet, indem man auf 1 Liter einer Lösung von 1/100000 $AgNO_3$ 5 bis 10 ccm gesättigtes Kalkwasser zusetzt.

Wegen der außerordentlich verdünnten Lösungen darf die Reaktion nicht im Tropfen vorgenommen werden, sondern die Objekte müssen in geringer Zahl längere Zeit (6 bis 12 Stunden) in einer größeren Menge des Reagens (½ bis 1 Liter) liegen. Durch schwaches Erwärmen der Lösung auf 30° kann die Reaktion oft beschleunigt werden. Die eingetretene Silberreduktion äußert sich in verschiedener Weise. Das Plasma erscheint im ganzen oder inselweise oder samt den Chromatophoren infolge des abgeschiedenen Silbers schwarz. Die Versuche gelingen gut mit Spirogyra, Zygnema, mit Haaren höherer Pflanzen, Zweigen und Wurzeln. Merkwürdigerweise versagt die Reaktion bei Oedogonium, Oscillaria, Nostoc, Batrachospermum, Diatomeen und vielen Pilzen. Getötete Zellen geben die Reaktion nicht und deshalb sehen Loew und Bokorny darin eine Lebensreaktion, die durch die Aldehydgruppen des aktiven Eiweiß zustande kommen soll.

Die aus der Silberreduktion von Loew und Bokorny (II) abgeleiteten Schlüsse und hypothetischen Vorstellungen haben, weil viel zu weitgehend, von Pfeffer (III) und seiner Schule eine scharfe, abweisende Kritik erfahren, auf die hier verwiesen, aber nicht eingegangen werden kann.

Aggregation. Mit der Proteosomenbildung darf nicht jener Vorgang verwechselt werden, den Darwin (I) in den Tentakelzellen von Drosera rotundifolia entdeckt hat und den man als Aggregation bezeichnet. Bei dieser, namentlich von de Vries (I) studierten Erscheinung handelt es sich im wesentlichen darum, daß unter gleichzeitiger Steigerung der Plasmaströmung der innere Saftraum der Zelle infolge einer

chemischen Reizung in mehrere kleinere Vakuolen zerfällt. Das Volum der Vakuolen nimmt dabei ab, das des Plasmas zu. Dieser Vorgang läßt sich in anthocyanreichen Tentakeln leicht beobachten, da hier der rote Farbstoff die Vakuolen besonders deutlich macht. Die Aggregation tritt ein, wenn man die Tentakeln mit einem Insekt, Eiweiß, Fleisch versieht oder mit einer 1proz. Lösung von kohlensaurem Ammon oder anderen basischen Stoffen (Klemm II) behandelt.

Als Folgeerscheinungen der Aggregation treten auch Fällungen ein, vorausgesetzt, daß die chemische Reizung eine starke ist. Bei mechanischer und schwacher chemischer Irritation unterbleiben sie. Die Fällungen bestehen aus Gerbstoff, Eiweiß usw., färben sich infolge der Speicherung von Anthocyan rot und bilden zuerst feinkörnige, dann größere kugelige Massen. Diese Fällungen erinnern, zumal sie auch durch basische Stoffe hervorgerufen werden können, an die vorhin behandelten Proteosomen anderer Pflanzen, womit aber nicht gesagt werden soll, daß es sich immer um identische Körper handelt.

Nach Janson (I) herrscht eine große Übereinstimmung zwischen den durch Coffeïn hervorgerufenen Ausscheidungen in den Tentakeln von Drosera und denen, die Loew und Bokorny in verschiedenen Pflanzen und besonders bei Spirogyra erhielten (Proteosomen). Janson sieht in der Aggregation „einen Abschnürungsvorgang des Vakuoleninhalts, welcher aus einer stark gequollenen Masse von Eiweißnatur besteht".

Literatur

zu p. 363 bis 407.

Amadei, G., I. Über spindelförmige Eiweißkörper in der Familie der Balsamineen. (Bot. Zbl. 1898, Bd. LXXIII, p. 33.)

Baccarini, I. Sui crystalloidi fiorali di alcune Leguminose. (Bull. della Società bot. Italiana 1895, p. 139.)

Bambeke, Ch. van, I. Le mycélium de Lepiota meleagris. (Mémoires de l'acad. royale des scienc. des lettres et des beaux arts de Belgique. 1902, Bd. LIV.)

Belzung, I. E., Recherches morph. et physiol. sur l'amidon et les grains de chlorophylle. (Ann. d. scienc. nat. 1887, sér. 7, Bd. V, p. 223.)

Berthold, G., I. Studien über Protoplasmamechanik. Leipzig 1886.

—, II. Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Meeresalgen. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1882, Bd. XIII.)

Biedermann, W., I. Stärke, Stärkekörner und Stärkelösungen. (Pflügers Archiv f. d. ges. Physiologie. 1920, Bd. CLXXXIII, p. 168.)

Böhm, J., I. Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1856, Bd. XXII, p. 479.

Bokorny, Th., I. Über die Einwirkung basischer Stoffe auf das lebende Protoplasma. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1888, Bd. XIX, p. 206.)

Boresch, K., I. Über fadenförmige Gebilde in den Zellen von Moosblättern und Chloroplastenverlagerung bei Funaria. (Zeitschr. f. Botanik 1914, Jahrg. VI, p. 97.)

—, II. Über den Eintritt und die emulgierende Wirkung verschiedener Stoffe in Blattzellen von Fontinalis antipyretica. (Bioch. Zeitschr. Berlin 1919, Bd. CI, p. 110.)

Borodin, I. Über die Wirkung des Lichtes auf die Entwicklung von Vaucheria sessilis. (Bot. Ztg. 1878, p. 497.)

Borzi, A., I. Sui cristalloidi nucleari dei „Convolvulus". (Contrib. alla biol. e fis. veg. di A. Borzi, 1894, Bd. I.)

Briosi, I Über normale Bildung von fettartigen Substanzen im Chlorophyll. (Bot. Ztg. 1873, p. 532.)

Bruns, E., I. Die Inhaltskörper der Meeresalgen. (Flora 1894.)

Chmilewskij, W., I. Über Bau und Vermehrung der Pyrenoide bei einigen Algen. (Refer. im Bot. Zbl. 1897, Bd. LXIX, p. 277.)

Cohn, F., I. Jahrb. d. schles. Ges. f. v. K. 1859, p. 72.

Crato, E., I. Die Physode, ein Organ des Zellenleibs. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges., 1892, p. 10.)

—, II. Über die Hansteenschen Fucosankörner. (Ebenda 1893, Bd. XI.)

Darwin, Ch., I. Insektenfressende Pflanzen. Stuttgart 1876. p. 33.

Dufour, I. Notices microchimiques sur le tissu épidermique des végéteaux. (Bull. soc. Vaud. sc. nat. T. XXII, p. 94.)

Faber, F. C. v., I. Über die Organisation und Entwicklung der irisierenden Körper der Florideen. (Zeitschr. f. Bot. 1913, Bd. V, p. 801.)

Fellerer, C., I. Beitr. z. Anat. u. System. d. Begoniaceen. Diss. 1892, München.

Figdor, W., I. Annales du Jardin de Botanique de Buitenzorg. (1896), T. XIV, p. 213.

Fischer, A., I. Die Zelle der Cyanophyceen. (Bot. Ztg. 1905, Jahrg. 63, p. 113.)

Francé, R., I. Zur Morphologie und Physiologie der Stigmata der Mastigophoren. (Zeitschr. f. w. Zool. 1893, Bd. LVI, p. 138.)

—, II. Die Lichtsinnesorgane der Algen. Stuttgart 1908. Monographien zum Ausbau der Entwicklungslehre. Kosmos, Ges. d. Naturfr.

Gardiner, W., I. On the Phenomena accompanying Stimulation of the Gland-Cells in the Tentacles of Drosera dichotoma. (Proceed. of the R. Soc. London. V., T. XXXIX, p. 229.)

Garjeanne, A., I. Die Ölkörper der Jungermanniales. (Flora 1903. Bd. XCII, p. 457.)

Gicklhorn, J., I. Über das Vorkommen spindelförmiger Eiweißkörper bei Opuntia. (Österr. bot. Ztschr. 1913, Jahrg. 63, p. 8.)

Godlewski, E., I. Ist das Assimilationsprodukt der Musaceen Öl oder Stärke? (Flora 1877, p. 215.)

Goeppert, H. R., und Cohn, F., I. Über die Rotation des Zellinhalts in Nitella flexilis. (Bot. Ztg. 1849, Jahrg. 7, p. 665.)

Golenkin, M., I. Algologische Notizen. (Bull. d. l. Soc. Impér. des Natur. d. Moscou. 1894, No. 2.)

Gottlieb, J., I. Annalen d. Chemie u. Pharm. 1850, Bd. LXXV, p. 50.

Grimme, I. Die wichtigsten Methoden der Bakterienfärbung in ihrer Wirkung auf die Membran, den Protoplasten und die Einschlüsse der Bakterienzelle. (Diss. Marburg 1902.)

Hansen, A., I. Über Stoffbildung bei den Meeresalgen. (Mitt. d. zool. Stat. z. Neapel, Bd. XI, Heft 2.)

Hansgirg, A., I. Ein Beitrag zur Kenntnis einzelliger Bildungen der Moosvorkeime usw. (Flora 1886, p. 291.)

Hansteen, B., I. Studien zur Anatomie und Physiologie der Fucoideen. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1892, Bd. XXIV.)

—, II. Über das Fucosan als erstes scheinbares Produkt der Kohlensäureassimilation bei den Fucoideen. (Ebenda 1900, Bd. XXXV.)

Hartig, T., I. Bot. Ztg. 1855, p. 881; 1856, p. 257.
Hegler, R., I. Untersuch. über die Organisation der Phykochromaceenzelle. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1901, Bd. XXXVI, p. 229.)
Heinricher, E., I. Über die Arten des Vorkommens von Eiweißkristallen bei Lathraea usw. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1900, Bd. XXXV, p. 28.)
—, II. Mitteil. d. naturw. Ver. f. Steiermark 1888, p. 168.
—, III. Zur Biologie v. Nepenthes usw. (Ann. d. jardin d. Buitenzorg 1906, T. V, sér. 2, p. 282.)
—, IV. Verwendbarkeit d. Eau de Javelle zum Nachweis kleinster Stärkemengen. (Zeitschr. f. Mikroskopie 1883, Bd. III, p. 213.)
Henckel, H., I. Über d. Bau d. veget. Organe v. Cystoclonium purpurascens. (Nyt. Magazin for Naturvidenskaberne, Bd. XXXIX, Christiania 1901.)
Hieronymus, G., I. Über Dicranochaete reniformis, eine neue Protococcacee d. Süßwassers. (Beitr. z. Biologie d. Pflanze 1892, Bd. V, p. 351.)
Höhnel, F. v., I. Anatom. Unters. ü. einige Sekretionsorgane d. Pflanzen. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1881, p. 589.)
Holle, H. G., I. Über die Assimilationstätigkeit von Strelitzia Reginae. (Flora 1877.)
Huie, L. H., I. On some Proteïn Crystalloids etc. (La Cellule 1895, T. XI, p. 83.)
Janson, Erna, I. Studien über die Aggregationserscheinungen in den Tentakeln von Drosera. (Beihefte z. Bot. Zbl. Bd. XXXVII, I. Abt., Heft 2. 1920, p. 154.)
Kallen, I. Verhalten des Plasmakörpers von Urtica urens. (Flora 1882.)
Klebahn, H. I. Studien über Zygoten I. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1891, Bd. XXII, p. 426.)
Klebs, G., I. Über die Bildung der Fortpflanzungszellen bei Hydrodictyon utric. (Bot. Ztg. 1891, Nr. 48.)
—, II. Flagellatenstudien. (Zeitschr. f. wiss. Zoologie, Leipzig 1893, Bd. XXV, p. 395.)
—, III. Über die Organisation einiger Flagellaten-Gruppen und ihre Beziehung z. Algen und Infusorien. (Untersuch. a. d. bot. Inst. z. Tübingen, Bd. I. Heft 2, p. 233.)
Klein, J., I. Pinguicula alpina als insektenfressende Pflanze in anatomischer Beziehung. (Cohns Beitr. z. Biol. d. Pflanz. 1880, Bd. III, p. 163.)
—, II. Algologische Mitteilungen. (Flora 1877, p. 289.)
—, III. Zur Kenntnis d. Pilobolus. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1872, Bd. VII, p. 337.)
Klemm, P., I. Beitr. z. Erforschung d. Aggregationsvorgänge i. lebend. Pflanzenzellen. (Flora 1892, Jahrg. 75, p. 413.)
—, II. Über die Aggregationsvorgänge in Crassulaceenzellen. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1892, p. 237.)
Klercker, J., I. Studien über die Gerbstoffvakuolen. (Diss. Tübingen 1888. Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie 1889, Bd. VI, p. 245.)
Koch, L., I. Untersuchungen über die bisher für Öl oder Phloroglucin gehaltenen Inhaltskörper der Fucaceen. (Diss. Rostock 1896.)
Kohl, F., I. Untersuchungen über das Carotin usw. Leipzig 1902.
Kolkwitz, R., I. Beitr. z. Biologie d. Florideen. (Wiss. Meeresunters. N. F., Bd. IV, Abt. Helgoland, Heft 1, 1900.)
Kozlowski, A., I. Sur l'origine des oléoleucites chez les hépatiques à feuilles. (Compt. rend. 1921, Bd. CLXXIII, p. 497—499.)
Krasser, F., I. Neue Methoden z. dauerhaften Präparation d. Aleuron u. seiner Einschlüsse. (Bot. Zbl. 1891, Bd. XLVIII, p. 282.)
Kraus, G., I. Über Eiweißkristalloide i. d. Epidermis von Polypodium ireoides. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1872, Bd. VIII, p. 426.)

Kruch, O., I. Sui crystalloidi della Phytolacca abyssinica. (Atti R. Accad. dei Lyncei. Ser. 5, Rendiconti 1896. Vol. V, fasc. 9, p. 364.)

Kuckuck, P., I. Beitr. z. Kenntnis d. Ectocarpus-Arten d. Kieler Föhrde. (Bot. Zbl. 1891, Bd. XLVIII.)

Küster, W. v., I. Die Ölkörper der Lebermoose. (Diss. Basel 1894. Refer. Bot. Zbl. 1895, Bd. LXII, p. 111.)

Kylin, H., I. Zur Biochemie d. Meeresalgen. (Ztschr. f. physiol. Chemie 1913, Bd. LXXXIII, Heft 3.)

—, II. Über die Inhaltskörper der Fucoideen. (Arkip för Botanik utgifvet af K. Svenska Vetenskapsakademien i. Stockholm, 1912, Bd. XI, Nr. 5.)

Leitgeb, H., I. Kristalloide in Zellkernen. (Mitt. a. d. bot. Instit. z. Graz. Jena 1888, p. 113.)

—, II. Über Sphärite. (Ebenda p. 315.)

Lemmermann, E., I. Beitr. z. Kenntn. d. Planktonalgen. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1900, Bd. XVIII.)

Lidforss, B., I. Über eigenartige Inhaltskörper bei Potamogeton praelongus. (Bot. Zbl. 1898, Bd. LXXIV, p. 305.)

—, II. Studien öfver alaeosferer i örtbladens mesophyll och epidermis. (Diss. Lund 1893 u. Koningl. Fysiogr. Sällskapets i Lund Handlingar, Bd. IV.)

Loew, O., und Bokorny, Th., I. Zur Chemie d. Proteosomen. (Flora 1892. Bd. LXXVI, Ergänzungsband zu 1892, p. 117.)

—, —, II. Die chemische Kraftquelle i. lebend. Protoplasma. München 1882.

Loew, O., I. Die chemische Energie d. lebenden Zellen. Stuttgart 1906, 2. Aufl.

Lohmann, I. Beitr. z. Chemie u. Biologie der Lebermoose. (Beih. z. Bot. Zbl., 1903, Bd. XXV, p. 215.)

Lüdtke, F., I. Beitr. z. Kenntn. d. Aleuronkörner. (Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXI, p. 62.)

Lundström, A. N., I. Über farblose Ölplastiden u. d. biolog. Bedeutung d. Öltropfen gewisser Potamogeton-Arten. (Bot. Zbl., Bd. XXXV, p. 177.)

Macquenne, L., I. Bull. de la Soc. chim. 1906 (3), T. XXXV, I—XV. Annal. d. Chim. et de Phys. 1906 (8), T. IX, p. 179—220.

Meyer, A., I. Das Chlorophyllkorn usw. (Leipzig 1883. Refer. Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie, Bd. I, p. 302.)

—, II. Über Kristalloide d. Trophoblasten usw. (Bot. Ztg. 1883, p. 489.)

—, III. Untersuchungen über d. Stärkekörner. Jena 1895.

—, IV. Über Stärkekörner, welche sich mit Jod rot färben. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1886, Bd. IV, p. 337.)

—, V. Orientierende Untersuchungen über die Verbreitung, Morphologie und Chemie des Volutins. (Bot. Ztg 1904, p. 113.)

—, VI. Die Zelle der Bakterien. Jena 1912, p. 238.

—, VII. Morphologische u. physiologische Analyse der Zelle bei Pflanzen u. Tieren. I. T. Jena 1920.

Meyer, H., I. Untersuch. über einige Flagellaten. Diss. Basel 1897.

Mikosch, K., I. Über ein neues Vorkommen geformten Eiweißes. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. VIII, p. 23.)

Mohl, H. v., I. Über den Bau d. Chlorophylls. (Bot. Ztg. 1855, p. 110.)

Molisch, H., I. Über Zellkerne besonderer Art. (Bot. Ztg. 1899.)

—, II. Studien über d. Milchsaft u. Schleimsaft d. Pflanzen. Jena 1901.

—, III. Über merkwürdig geformte Proteïnkörper i. d. Zweigen von Epiphyllum. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1885, Bd. III, p. 195.)

—, IV. Bemerkung zu J. H. Wakkers Arbeit. (Ebenda 1891, p. 270.)

Monteverde, I. Über die Ablagerung von Calcium- und Magnesium-Oxalat i. d. Pflanze. Petersburg 1889. C. 43, 317.
Mrazek, A., I. Über geformte eiweißartige Inhaltskörper bei d. Leguminosen. (Österr. bot. Zeitschr. 1910, Jahrg. 60, p. 198.)
Naegeli, C. v., I. Die Stärkekörner 1858, p. 400.
Naumann, E., I. Om jodfenol som mikrokemiskt reagens. (Botan. Notiser 1917, p. 197.)
Nestler, A., I. Myelin und Eiweißkristalle i. d. Frucht von Capsicum annuum L. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1906, Bd. CXV, Abt. I.)
Noll, F., I. Eau de Javelle, ein Aufhellungs- und Lösungsmittel f. Plasma. (Bot. Zbl. 1885, Bd. XXI, p. 377.)
Oltmanns, T., I. Morphologie u. Biologie d. Algen. Jena 1905, Bd. II, p. 149.
Overton, E., I. Beitr. z. Histologie u. Physiologie d. Characeen. (Bot. Zbl. 1890, Bd. XLIV, p. 5.)
—, II. Beitr. z. Kenntnis d. Gattung Volvox. (Ebenda 1889, Bd. XXXIX, p. 148.)
Pfeffer, W., I. Untersuchungen über d. Proteïnkörner usw. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1872, Bd. VIII, p. 429.)
—, II. Die Ölkörper d. Lebermoose. (Flora 1874, p. 2.)
—, III. Loew und Bokornys Silberreduktion in Pflanzenzellen. (Flora 1889, Jahrg. 72, p. 46.)
Politis, I. Sugli Elaioplasti nelle Mono- e Dicotyledoni. (Atti delle Reale Acad. dei Lincei. 1911, Bd. XX, p. 599.)
Poulsen, V. A., I. Note sur la préparation des grains d'aleurone. (Revue gén. d. Bot. 1890, p. 547.)
Pringsheim, N., I. Monatsber. d. Berliner Akad. d. Wissensch. März 1855. (Vaucheria).
—, II. Über Zellulinkörner, eine Modifikation d. Zellulose i. Körnerform. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1883, Bd. I, p. 288.)
—, III. Über Lichtwirkung u. Chlorophyllfunktion i. d. Pflanze. (Jahrb. f. wiss. Biol. 1879—1881, Bd. XII, p. 354.)
Radlkofer, L., I. Über Kristalle proteïnartiger Körper pflanzl. u. tier. Ursprungs. Leipzig 1859.
—, II. Zur Klärung von Theophrasta usw. (Sitzungsber. d. K. bayr. Akad. d. Wiss. in München, 1889, Bd. XIX, p. 221.)
—, III. Über die Gliederung der Familie der Sapindaceen. (Ebenda 1890, Bd. XX, p. 105.)
Raciborski, M., I. Über die Entwicklungsgeschichte der Elaeoplasten d. Liliaceen. (Anzeig. d. Akad. d. Wiss. in Krakau 1893, p. 259.)
—, II. Flora, 1897, Bd. LXXXIII, p. 75.
Raunkjär, E., I. Cellekjer ne krystalloider hos Stylidium og Aeschynanthus. (Botan. Tidskr. 1887, Bd. XVI, p. 41.)
—, II. Om Krystalloider i. cellekärner hos Pyrolaceae. (Vidensk. Meddel f. d. nat. forening i. Kjöbenhavn 1882, p. 70.)
Reinke, J., und Rodewald, H., I. Die chem. Zusammensetzung des Protoplasmas von Aethalium septicum. (Unters. a. d. botan. Laborat. d. Univ. Göttingen, Berlin 1881, Heft 1.)
Reinke, J., I. Beitr. z. Kenntnis der Tange. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1876, Bd. X.)
Rosanoff, I. Observations sur les fonctions et les propriétés des pigments de divers algues. (Extr. des Mémoires de la Soc. imp. d. sc. nat. d. Cherbourg, 1868, T. XIII.)
Russow, I. Dorpat. Naturforsch. Ges. Okt. 1880.

Sachs, J., I. Ein Beitrag z. Kenntnis d. Ernährungstätigkeit d. Blätter. (Würzburger Arbeiten, Bd. III, p. 1.)
Schaar, F., I. Die Reservestoffbehälter d. Knospen von Fraxinus excelsior. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien 1890, Bd. XCIX, p. 291.)
Schaarschmidt, J., I. Zellhautverdickungen u. Zellulinkörper bei den Vaucherien u. Charen. (Justs bot. Jahrber. 1884, Jahrg. 12, p. 220; 1885, Jahrg. 13, p. 389.)
Schenk, H., I. Untersuch. über d. Bildung zentrifugaler Wandverdickungen. Diss. Bonn 1884.
Scherffel, A., I. Notizen zur Kenntnis der Chrysomonadineae. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1904, p. 443.)
—, II. Algologische Notizen. (Ebenda 1907, p. 228.)
Schimper, A. F. W., I. Untersuchungen über die Proteïnkristalloide d. Pflanzen. (Diss. Straßburg 1878. Refer. Justs bot. Jahrb. 1878.)
—, II. Untersuchungen über d. Chlorophyllkörper u. die ihnen homologen Gebilde. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1885, Bd. XVI.)
—, III. Über Bildung u. Wanderung d. Kohlehydrate i. d. Laubblättern. (Bot. Ztg. 1885, Jahrg. 43, p. 739.)
Schmitz, F., I. Die Chromatophoren d. Algen. Bonn 1882.
Schütt, F., I. Über Organisationsverhältnisse d. Plasmaleibes d. Peridineen. (Sitzungs ber. d. K. Akad. d. Wiss. z. Berlin 1892, p. 377.)
Sertorius, A., I. Beitr. z. Kenntn. d. Anatomie der Cornaceae. (Bull. d. l'Herb. Boissier 1893, T. I, p. 469.)
Shimoyama, I. Beitr. z. Kenntn. d. japan. Klebreises, Mochigome. Diss. Straßburg 1886.
Solereder, H., I. Studium über die Tribus d. Gaertnereen. (Ber. d. Deutschen bot. Ges. 1890, p. 71.)
Solla, R. F., I. Über Eiweißkristalloide in den Zellkernen von Albuca. (Österr. Bot. Ztschr. 1920, p. 110.)
Sperlich, A., I. Die Zellkernkristalloide von Alectorolophus. (Beih. z. Bot. Zbl. 1906, Bd. XXI.)
Stahl, E., I. Pflanzen und Schnecken. Jena 1888, p. 49.
Staritz, I. Über einen neuen Inhaltskörper d. Siebröhren einiger Leguminosen. (Festschr. z. 250jähr. Jubelfeier d. Gymn. z. St. Magdalena i. Breslau 1893.)
Stock, G., I. Ein Beitrag z. Kenntn. d. Proteïnkristalle. (Cohns Beitr. z. Biologie d. Pflanzen 1893, Bd. VI, p. 213.)
Strasburger, E., I. Botan. Praktikum. 3. Aufl. Jena 1897, p. 98.
—, II. Schwärmsporen, Gameten usw. (Histol. Beitr. Heft 4, p. 47.)
Tieghem, v., I. Note sur les globules amylacées des Floridées et des Corallinées. (Ann. d. scienc. nat. bot. 1865, sér. 5, T. III, p. 315.)
Tschirch, A., und Kritzler, H., I. Mikrochem. Untersuch. ü. d. Aleuronkörner. (Ber. d. deutsch. pharm. Ges. Berlin 1900, Jahrg. 10. p. 214.)
Vines, de, I. On the chemical composition of Aleuron. (Grains. Proc. Roy. Soc. Vol. XXVIII, XXX, XXXI.)
Vogl, A., I. Beitr. z. Kenntn. d. Milchsaftorgane der Pflanzen. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1866, Bd. V, p. 31.)
Vries, H. de, I. Über die Aggregation im Protoplasma von Drosera rotundifolia. (Bot. Ztg. 1886, p. 1.)
Wakker, J. H., I. Studien über die Inhaltskörper d. Pflanzenzelle. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1888, Bd. XIX.)
—, II. Ein neuer Inhaltskörper d. Pflanzenzelle. (Ebenda Bd. XXIII.)

Wallin, G. S., I. Über gerbstoffähnliche Tröpfchen im Zellsafte der Bromeliaceenblätter. (Bot. Zbl. 1898, Bd. LXXV, p. 323.)
Weber van Bosse, I. Études sur les Alges de l'Archipel Malaisien II. (Ann. d. jard. bot. d. Buitenzorg. Vol. VIII, p. 165.)
Werminski, F., I. Über die Natur der Aleuronkörner. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1888, Bd. VI, p. 199.)
Wiesner, J., I. Die Rohstoffe des Pflanzenreichs usw. 2. Aufl., 1900, Bd. I, p. 550.
Wollenweber, W., I. Das Stigma von Haematococcus. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1907, Bd. XXV, p. 316; 1908, Bd. XXVI.)
Zemplén, G., I. Abderhaldens Biochem. Handlexikon. Berlin 1911, Bd. II, p. 114.
Zikes, H., I. Beitr. z. Volutinvorkommen in höheren Pilzen, speziell in Hefen. (Allg. Zeitschr. f. Bierbrauerei usw. 1922, p. 39.)
Zimmermann, A., I. Über das tinktionelle Verhalten der Zellkernkristalloide. (Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie 1893, Bd. X, p. 211.)
—, II. Beitr. zur Morphologie u. Physiologie d. Pflanzenzelle. Tübingen 1893, Bd. I.
—, III. Die Morphologie u. Physiologie d. pflanzlichen Zellkerns. Jena 1896.
—, IV. Die botan. Mikrotechnik. Tübingen 1892.
—, V. Sammelreferate a. d. Gesamtgebiete d. Zellenlehre. (Beih. z. Bot. Zbl. 1894, Jahrg. 4, p. 90.)
Zopf, I. Über einen neuen Inhaltskörper i. pflanzl. Zellen. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1887, Bd. V, p. 275.)

Autoren-Register.

A.

Abderhalden 12. 106. 113. 137. 141. 142. 152. 177.
Abranovicz 400.
Adami 122. 142.
Albertus 183. 202.
Albo 202. 293. 326.
Altenburg 236. 283.
Amadei 370. 407.
Ambronn 32. 35. 349. 360.
André 92. 98.
Anema 289. 291 326.
Araki 341.
Arnaud 90. 98.
Arnoldt 206.
Aschoff 122. 142.

B.

Babikoff 190. 202.
Babiy 86. 98.
Baccarini 240. 279. 370. 407.
Bach 319. 326.
Bachmann 206. 212. 217. 279.
Baeyer 134. 142.
Baldasseroni 96. 98.
Bambecke 368. 407.
Bamberger 168. 177.
Barger 199. 202.
Barth 288. 289. 301. 302. 303. 308. 326.
Bary, de 54. 123. 128. 129. 142. 341. 350. 360.
Bauer 306. 326.
Baylei 371.
Behrens, H. 4. 12. 14. 28. 36. 44. 45. 47. 58. 60. 61. 64. 67. 72. 76. 86. 98. 107. 109. 114. 142. 154. 177. 288. 291. 300. 326.
Behrens, J. 160. 177.
Behrens, W. 12. 22. 36.
Beijerinck 95. 98. 241. 244. 245. 246. 279. 280.
Beilstein 172. 177.
Bělohoubek 359. 360.
Belzung 56. 63. 98. 388. 407.
Benecke 50. 98.
Beneke 121. 142.
Bensley 72. 98.
Bergmann 109. 142.
Bersa 53. 98.
Bertel 152. 153. 177.
Berthelot 92. 98.
Berthold 371. 391. 392. 400. 401. 407.
Best 142.
Biedermann 319. 326. 386. 407.
Blasdale 128. 142.
Blau 308. 327.
Blenk 274. 280.
Boedecker 305. 327.
Böhm 57. 98. 382. 407.
Boehmer 20.
Bönninghausen 201.
Boguslawsky 190. 202.
Bokorny 173. 179. 315. 328. 405. 406. 407. 410.
Boresch 360. 399. 400. 407.
Bořicky 36.
Borodin 24. 36. 82. 105. 114. 116. 142. 150. 151. 177. 184. 202. 247. 250. 280. 382. 408.
Borščow 149. 177. 182. 191. 192. 202. 231. 280. 309. 327.
Borzi 367. 408.
Bourcet 86. 98.
Brach 341.
Braemer 174. 177.
Brandstetter 294. 327.
Brandt 202. 327.
Braun 149. 164. 177. 178.

Briosi 382, 408.
Brissemoret 163. 164. 178.
Brücke 121. 142.
Bruns 388. 408.
Brunswik 54. 83. 98. 126. 127. 142. 183. 184. 193. 196. 203. 325. 327, 342. 360.
Burgerstein 344. 347. 360.
Buscalioni 119. 142. 270. 280.
Busch 90. 98.
Busse 161. 178.
Bütschli 222.

C.

Cabannes 203.
Cador 310. 327.
Cario 80. 98.
Casparis 346. 360.
Cazeneuve 147. 178.
Chevreul 347. 360.
Chmilewskij 381. 408.
Chodat 319. 326.
Classen 20. 36. 142.
Clautriau 139. 142. 286—291. 298. 299. 301. 304. 308. 311. 313. 327.
Cohn 68. 77. 98. 376. 408.
Combes 163. 164. 178. 280.
Correns 153. 273. 280. 338. 349. 360.
Corsini 68. 98.
Corti 376.
Councler 56. 99.
Courchet 255. 271. 280
Cramer 68. 98.
Crato 391. 392. 408.
Crié 340. 360.
Crombie 206.
Crüger 20. 36. 75. 77. 79. 98.
Czapek 8. 12. 36. 63. 90. 98. 106. 108. 111. 121. 123. 131. 132. 135. 142. 143. 150. 159. 161. 176. 178. 216. 236. 258. 280. 320. 340. 345 346. 360.

D.

Dafert 358—360.
Darwin 406. 408.
Daube 276. 280.
Decaisne 236. 280.
De Candolle 111.
Decker 275. 280.
Dekker 172. 178.
Delafield 22.
Dennert 271. 280.
Devaux 355. 360.
Dischendorfer 336. 360.
Dohrn 153. 155. 178.
Donau 12.
Dragendorff 292.
Droog 313. 327.
Dufour 174. 178. 199. 203. 366. 370. 404.

E.

Ebermayer 66. 98.
Eder 30. 31. 36. 288. 327.
Ehrlich 28. 239. 280.
Eichler 106.
Elfstrand 301. 327.
Elfram 90. 98.
Emich 4. 13. 26. 27. 32. 36. 114. 143.
Engelmann 93. 97. 99.
Ensch 139. 143.
Eriksson 238. 280.
Ernest 108. 145.
Errera 137. 139. 143. 286. 287. 288. 290. 304. 308. 313. 327.
Eto 88. 104.
Euler 13. 92. 99.

F.

Faber 401. 408.
Faltis 12. 36.
Feldhaus 291. 327.
Fellerer 403. 408.
Figdor 367. 408.
Fischer, A. 54. 69. 99. 131. 138. 139. 140. 143. 153. 398. 404.
Fischer, E. 129. 132. 143. 309.
Fischer, H. 137. 143.
Flückiger 149. 178.
Fluri 46. 99.
Forsell 206.
Franchimont 169. 178.
Frank 88. 90. 99. 254.
Francé 401, 402, 408.
Fremy 350. 395.
Fresenius 19. 36. 99.
Fribourg 103.
Fritsch 171. 178.
Fuchs-Brauns 35. 36.
Fünfstück 164. 178. 217. 280.
Fürth, v. 13. 117.

G.

Gaidukov 257. 280.
Gardiner 174. 178. 369. 405.

Garjeanne 397. 408.
Gantier 86. 99.
Geneau de Lamarlière 159. 178. 351. 360.
Gerdts 358.
Gerock 301. 303. 327.
Gertz 340. 341. 360.
Gicklhorn 69. 99. 369. 370. 372. 408.
Gießler 111. 143.
Gilson 43. 99. 337. 341. 347. 361.
Giltay 21. 36. 337. 361.
Gjokič 346. 361.
Gnezda 239. 280.
Godlewski 382. 383. 408.
Goebel 176. 178.
Goeppert 376. 408.
Gößl 46. 47. 99.
Gola 69. 99.
Goldschmiedt 227. 280. 281.
Golenkin 88. 99. 399. 408.
Gordin 306. 327.
Gottlieb 390. 408.
Gottsche 397.
Grafe 8. 13. 36. 134. 143. 159. 170. 178. 191. 265. 280. 322. 327. 338. 346. 352. 361.
Green 136. 143.
Greshoff 8. 36. 193. 203.
Grimme 404. 409.
Grob 81. 99.
Grüß 318. 320. 322. 323. 327.
Grutterink 286. 307. 327. 328.
Guèrin 295. 328.
Guignard 187. 196. 197. 203. 323. 324. 325. 328.
Guy 28. 36.

H.

Haarmann 346. 363.
Haberlandt 78. 99. 200. 203.
Haenlein 56. 99.
Hanausek, T. 8. 36. 149. 178. 189. 198. 203. 275. 310. 328. 358. 359. 361.
Hansen 55. 56. 99. 247. 271. 280. 388. 391. 392. 399. 408.
Hansgirg 380. 408.
Hansteen 57. 99. 391. 392. 408.
Hansteen Cranner 335. 361.
Hanstein 169. 178. 356.
Harmand 206.
Harries 170.
Hartig 20. 36. 115. 116. 143. 316. 328. 372. 409.
Hartwich 120. 143. 147. 149. 178. 238. 239. 273. 274. 280. 358.
Harvey-Gibson 117. 143.
Harz 201. 203.
Hassack 270. 280.
Haushofer 36. 48. 74. 76. 82. 99. 107. 108. 143. 154. 178.
Heckel 286.
Hegler 139. 143. 343. 344. 345. 361. 371. 402. 409.
Heinricher 78. 99. 203. 299. 323. 324. 328. 339. 361. 365. 370. 371. 372. 387. 409.
Helwig 28. 36. 37.
Henckel 389. 409.
Herder 328.
Herrmann 163. 178. 201. 203. 224. 226. 231. 276. 280. 305. 306. 328.
Herzig 225.
Hesse 205. 206. 213. 239. 280.
Heyl 158. 178.
Hiepe 231. 283.
Hieronymus 381. 399. 409.
Hilger 106.
Hinze 69. 99.
Höhnel, v. 8. 16. 37. 148. 178. 190. 191. 203. 345. 347—350. 361. 370. 409.
Hof 28. 37.
Hoffmeister 131. 132. 143.
Hofstetter 177. 180.
Holle 372. 382. 409.
Holmes 238. 280.
Holzner 51. 99.
Hoppe-Seyler 96. 99. 134. 143. 247. 249.
Hue 206.
Hugounenq 147. 178.
Huie 368. 409.
Husemann 106.

I.

Ihl 345. 361.
Iltis 171. 179. 255.
Ivoine 341.
Iwanoff 71. 99. 341.

J.

Jacquemin 287. 295. 328.
Janson 201. 203. 407. 409.
Jatta 206.
Jönson 69. 99.
Joachimovitz 147—149. 179.

Johannsen 325. 328.
Jong 197. 203.
Jung 82. 83. 84. 100.
Justus 85. 86. 100.

K.

Kärner 74. 100.
Kallen 367. 405. 409.
Kappen 212.
Karzel 270. 280.
Kayser 275. 280.
Kerner, v. 78. 100.
Kisser 50.
Klason 346. 361.
Klebahn 69. 100. 381. 409.
Klebs 259. 281. 328. 361. 381. 390. 393. 402. 409.
Klein, G. 225. 271. 272. 275. 277. 281. 343. 361.
Klein, J. 366. 367. 371. 406.
Klein, R. 89. 91. 92. 100. 301. 328.
Klément 36.
Klemm 405. 406. 407. 409.
Klercker 173. 174. 175. 179. 400. 406.
Kley 12.
Klotsch 128. 129. 143.
Knoll 120. 396.
Knuth 134. 143.
Kny 21. 37. 97. 100.
Kobert 197.
Koch 409.
Koerber 206.
Kohl 50. 53. 57. 76. 77. 78. 80. 100. 139. 255. 258. 281. 343. 361. 402. 409.
Koernicke 13.
Kofler 19. 179.
Kolderup-Rosenvinge 56. 100.
Kolkwitz 87. 88. 100. 384. 389. 409.
Kolpin Ravn 81. 100.
Koninck, de 61. 100.
Kosmann 143. 155.
Kozlowski 199. 203. 398. 410.
Krabbe 318. 328.
Krasser 21. 37. 153. 215. 281. 314. 315. 328. 373. 374. 406.
Kratzmann 44. 45. 46. 100.
Kretz 117. 143.
Kraus 27. 37. 135. 143. 247. 371. 409.
Kritzler 374. 410.
Kroemer 143. 351. 361.
Kruch 371. 410.
Kuckuck 391. 410.
Kügler 347. 361.
Küster 76. 100. 398. 410.
Kylin 58. 66. 88. 100. 256. 258. 262. 263. 281. 354. 361. 389. 392. 393. 410.

L.

Ladenburg 81. 100. 291.
Lafon 198.
Lange 81. 100.
Leake 246. 281.
Léger 231.
Lehmann 240. 281.
Leighton 206.
Leitgeb 56. 100. 115. 136. 143. 179. 366. 368. 370. 410.
Lemmermann 410.
Liebaldt 251. 281.
Liebig 63.
Liesegang 6. 37.
Lidforss 162. 176. 179. 399. 410.
Lilienfeld 71. 72. 100.
Lindt 147. 148. 179. 301. 302. 328.
Linné 8.
Linsbauer, K. 78. 101. 131. 144. 170. 179. 346. 362. 400.
Lintner 320. 328.
Lloydt 224.
Loew 50. 101. 113. 144. 173. 179. 315. 328. 405. 406. 410.
Lohmann 398. 410.
Lomann 88. 101.
Lotsy 300. 329.
Lubarsch 139. 144.
Lüdecke 210.
Lüdtke 373. 410.
Lundström 162. 179. 399. 410.
Lutz 325. 329.

M.

Macallum 43. 62. 63. 72. 83. 101.
MacDougal 127. 144.
Maistriau 287. 288. 304. 308. 313.
Mandelin 203.
Manea 176. 179.
Mangin 19. 37. 57. 101. 337. 352. 353. 354. 355. 356. 357. 362.
Maquenne 386. 410.
Marchlewski 247. 281.
Marpmann 176. 179.
Mazurkiewicz 166. 179.

Mattirolo 345. 362.
Mäule 344. 362.
Maxwell 94.
Mayer P. 22.
Melnikoff 101.
Menten 101.
Merck 37.
Mesnard 166. 179.
Mettenius 79.
Metz 171. 179.
Meyer, A. 8. 19. 34. 37. 124. 131. 132. 139. 144. 166. 179. 249. 281. 317. 318. 329. 372. 378. 381. 382. 383. 384. 386. 387. 388. 397. 398. 403. 404. 410.
Meyer, E. 41. 101.
Meyer, H. 13. 144. 393. 410.
Mieg 252. 282.
Miklauz 358. 359.
Mikosch 124. 144. 155. 170. 179. 315. 326. 370. 371. 410.
Miliarakis 75. 101.
Millon 21. 315.
Mirande 338. 357. 362.
Mitlacher 29. 37. 230. 231. 281.
Moebius 81. 101. 124. 144. 270. 279. 281.
Moeller, J. 8.
Moeller, H. 173. 179.
Mohl, v. 79. 101. 382. 410.
Molisch 4. 6. 8. 9. 12. 13. 37. 41. 43. 44. 47. 50. 53. 58. 60. 69. 79. 80. 81. 84. 88. 92. 95. 96. 97. 101. 102. 106. 110. 111. 119. 120. 121. 122. 130. 136. 142. 144. 146. 149. 156. 161. 162. 170. 171. 179. 180. 183. 191. 199. 200. 203. 204. 221. 222. 224. 227. 228. 232. 233. 234. 241—246. 253. 254. 255. 256. 257. 258. 259—264. 265. 267. 268. 275. 277. 278. 281. 282. 287. 289. 290. 296. 299. 310. 311. 317. 320. 321. 322. 329. 336. 345. 346. 350. 353. 359. 362. 368—372. 374. 376. 410.
Moll 37. 173. 180.
Molle 287. 290. 291. 293. 313. 329.
Monteverde 55. 56. 60. 92. 102. 105. 144. 247. 399. 411.
Monti 71. 72. 100.
Moore 358. 362.
Mrazek 367. 371. 411.
Müller, C. 41. 44. 102.
Müller C. O. 115. 144.
Müller, H. 126. 144.
Müller, H. 242. 282.
Müller, H. C. 52. 102.
Müller, J. 206.
Müller, J. N. C. 168. 180. 265.
Müller, K. 144.
Mylius 27.

N.

Nadelmann 62.
Nadson 220. 282.
Nägeli, v. 265. 273. 282. 382. 411.
Nasse 315. 329.
Nathanson 69. 102.
Naumann 10. 37. 76. 102. 387. 411.
Nessler 19.
Nestler 8. 28. 29. 37. 63. 102. 121. 122. 125. 126. 127. 144. 145. 154. 156. 162. 180. 242. 282. 288. 310. 329. 353. 362. 371. 411.
Netolitzky 11. 51. 78. 102. 149. 180.
Neubauer 120.
Neumann 240. 278.
Nickel 21. 37. 66. 102. 174. 180. 329. 345. 362.
Niggl 344. 362.
Noll 387. 411.
Norton 238. 282.
Nowopokrowsky 19. 37. 336. 362.

O.

Oesterle 231. 232. 282. 289. 301. 327.
Olivier 206.
Oltmanns 389. 411.
Osterhout 65. 103.
Overton 174. 180. 265. 282. 373. 377. 381. 401. 411.

P.

Padé 90. 98.
Palladin 319. 329.
Paterno 205.
Patschovsky 111. 145.
Pawlewski 320. 329.
Payen 57. 103.
Peche 194. 195. 204. 324. 326. 329.
Pedersen 232. 234. 282.
Peklo 47. 103.
Pellet 103.
Perrot 180.
Pfeffer 26. 37. 103. 113. 115. 145. 175. 180. 184. 185. 204. 372. 373. 374. 397. 398. 405. 406. 411.

Pfister 358.
Pierre 63. 103.
Pichard 46. 103.
Pictet 285. 329.
Plaut 349. 362.
Pohl 321. 329.
Polacco 231. 283.
Politis 397. 411.
Polacci 72. 103. 270. 277.
Portheim, v. 282.
Poulsen 13. 373. 411.
Pozzi-Essot 288. 329.
Praël 353. 359. 362.
Prantl 136. 145. 271. 282.
Pregl 31. 37.
Pringsheim 249. 282. 382. 394. 403. 411.
Pristley 349. 362.
Pröscher 201. 204.
Prollius 234. 283.
Pulitzer 238. 283.

R.

Raciborski 69. 72. 103. 115. 145. 200. 201. 204. 317. 321. 322. 329. 366. 397. 411.
Raczinski 190. 204.
Radlkofer 45. 46. 55. 103. 365. 367. 399. 403. 411.
Raspail 314. 330.
Raunkjär 367. 411.
Ré 56. 104.
Regnard 97. 103.
Reichi 315. 330. 352. 363.
Reinbold 145.
Reinitzer 121. 145. 172. 180. 322. 330.
Reinke 365. 411.
Reiss 339. 363.
Rénard 36.
Richter, K. 341. 363.
Richter, O. 4. 13. 37. 58—59. 65. 76. 81. 104. 338. 355. 363.
Rijn, van 182. 190. 203.
Robertson 88. 103.
Rochleder 8. 38.
Rodewald 365. 411.
Rodier 57. 103.
Röhrmann 320. 330.
Rosanoff 388. 411.
Rosenthaler 13. 30. 38. 193. 204.
Rosoll 190. 197. 204. 276. 283. 295. 302. 306. 307. 330.
Rothert 45. 103. 255. 283.
Ruhemann 113.
Rumpf 351. 363.
Rumphius 46.
Rundquist 306. 309. 330.
Rupe 215. 283.
Russel 283. 313. 330.
Russow 366. 411.

S.

Sachs 75. 131. 136. 145. 387. 412.
Sack 240. 283.
Sandstede 206.
Saito 153.
Sanio 173. 180. 199.
Schaar 367. 412.
Schaarschmidt 56. 103. 292. 330. 394. 395. 412.
Schell 192. 204.
Schellenberg 339. 347. 363.
Schenk 367. 412.
Scherfell 401. 412.
Schiff 38.
Schimper 19. 38. 49. 60. 61. 63. 64. 67. 71. 83. 84. 90. 92. 103. 113. 145. 149. 180. 255. 258. 283. 377. 378. 381. 387. 389. 412.
Schlockow 271. 283.
Schmidt, J. 304. 330.
Schmidt, v. 347. 363.
Schmied 256. 283.
Schmitz 380. 382. 389. 391. 412.
Schneider 345.
Schoenau 176. 180.
Scholl 282.
Schtstcherback 84. 103.
Schüler 275. 283.
Schütt 259. 283. 399. 412.
Schulze 116. 145. 152. 180. 339. 363.
Schunk 216.
Schwabach 169. 180.
Schwarz 25. 38. 216. 283. 317. 330.
Schweidler 325. 330.
Schwendener 236. 265. 270. 273. 282.
Scott 72. 103.
Semmler 141. 145.
Senft 29. 38. 122. 133. 145. 157. 180. 208. 210. 211. 212. 213. 215. 283. 359. 363.
Senn 399.
Sernander 120. 145.
Sertorius 399. 412.

Shimoyana 388. 412.
Shirasawa 167. 180.
Siim-Jensen 291. 330.
Simon 124. 145.
Singer 162. 180. 190. 345. 346. 363.
Skiparri 301. 303. 327.
Smith 46. 104.
Solereder 8. 38. 55. 81. 104. 171. 180. 325. 330. 399. 412.
Solla 142. 145. 368, 372. 412.
Soltsien 89. 104.
Sorby 247.
Spatzier 324. 325. 330.
Sperlich 175. 177. 180. 367. 372. 412.
Spieß, v. 270. 283.
Spitzer 320. 330.
Stähelin 177. 180.
Stahl 111. 145. 206. 283. 399. 412.
Staritz 412.
Steensma 241.
Stein 206.
Stock 370. 372. 412.
Stoklasa 108. 145.
Stoll 160. 161. 181. 284.
Strasburger 13. 20. 38. 363. 368. 373. 381. 412.
Strecker 228. 283.
Streng 38. 44.
Suzuki 93. 311. 330.
Sydow 206.
Szücs 46. 104.

T.

Tammes 8. 38. 254. 283.
Temme 353. 363.
Theorin 190. 204.
Thiele 153. 155. 178.
Thörner 221. 283.
Thoms 8. 38. 57. 104.
Tichomirow 149. 180.
Tieghem, van 274. 283. 371. 388. 412.
Tiemann 346. 363.
Tisza 234.
Tobler 355. 363.
Toni, de 290. 330.
Treub 193. 194. 195. 204.
Trier 285. 309. 331.
Trimble 224.
Trommer 131. 145.
Tschirch 8. 13. 38. 158. 166. 167. 168. 169. 170. 180. 181. 204. 231. 232. 247. 249. 254. 271. 283. 289. 301. 322. 330. 331. 350. 353. 355. 358. 359. 363.
Tswett 247. 255. 256. 283. 284.
Tunmann 8. 13. 28. 29. 38. 85. 86. 104. 106. 107. 119. 122. 124. 133. 136. 145. 153. 155—158. 163. 165. 169. 170. 181. 183. 185—188. 202. 204. 223. 235. 275. 284. 288. 300. 303. 306—308. 331.
Tutin 188. 205.

U.

Udránsky 130. 145.
Uhlmann 120. 143.
Umlauft 145.
Unverdorben 169.

V.

Vanderlinden 205. 304. 331.
Vater 55. 104.
Verschaffelt 239. 240. 284.
Viehoever 343. 363.
Vines 373. 412.
Virchow 121. 145.
Visser 91. 104.
Vogl, Aug. 8. 133. 145. 181. 183. 205. 236. 276. 284. 367. 412.
Vogl, A. 117. 133. 145.
Vogtherr 238. 284.
Voigt 140. 146.
Volkart 242. 284.
Votava 376. 377.
Vouk 342. 363.
Vries, de 406. 412.

W.

Waage 148. 181. 198. 205.
Wainio 206.
Wakker 370. 371. 375. 382. 396. 397. 398. 401. 412.
Walliczek 353. 363.
Wallin 403. 413.
Walter 177. 181.
Warming 80. 104.
Wasiczky 231. 284. 301. 303. 331.
Wassilieff 152. 181.
Weber van Bosse 393. 413.
Weehuizen 240. 241. 284.
Weevers 63. 64. 65. 66. 104. 182. 185. 188. 190. 205. 286. 331.
Wehmer 13. 106.
Wehnert 46. 104.

Weigert 265. 266. 284.
Weinschenk 32. 35. 38.
Weinzierl, v. 147. 181.
Weiß 42. 104.
Werminski 375. 413.
Wertheim 140. 146.
Weselsky 146. 147. 181.
Wester 343. 363.
Wettstein, F. v. 343. 363.
Wettstein, R. v. 8. 38.
Wèvre 291. 317. 331.
Wheeler 363.
Wiener 43. 104.
Wiesner, v. 8. 9. 11. 13. 19. 20. 28. 38. 42. 73. 104. 123. 128. 146—148. 153. 157. 168. 181. 236. 258. 264. 265. 284. 322. 331. 344. 345. 352. 363. 364. 384. 413.
Wigand 148. 181. 265.
Wildemann 287. 313. 331.
Will 138. 353. 359. 363.
Willstätter 60. 104. 160. 161. 181. 247 bis 249. 251—253. 256. 257. 259. 264—266. 270. 284.
Wilschke 259. 284.
Wimmer 165. 181.
Winckel 147. 149. 178.
Winogradski 67. 68. 104.
Winterstein 285. 309. 331. 339. 341. 364.
Wisselingh, v. 173—176. 181. 254. 255. 285. 340—343. 349. 350. 354. 364.
Wittmann 292.
Wolfenstein 285.
Wollenweber 401. 413.
Wothtschall 292. 293. 331.
Wuite 157. 181.
Wurster 320. 331.

Y.

Yohuda 88. 104.

Z.

Zacharias 44. 104. 316. 317. 331. 350. 364.
Zahlbruckner 206.
Zaleski 92.
Zeisel 156. 180. 347. 352. 364.
Zellner 8. 38. 107. 146. 220. 285.
Zemplén 342. 364. 386. 413.
Zempten 239. 285.
Zerner 227. 280.
Ziegenspeck 340. 364.
Zikes 138. 404. 413.
Zimmermann 13. 19. 38. 51. 56. 72. 78. 104. 114. 119. 146. 285. 305. 316. 331. 337. 349. 364. 366—368. 370. 371. 379. 381. 397. 401. 413.
Zopf 8. 38. 128. 129. 146. 205. 206. 210. 212—217. 220. 221. 285. 299. 300. 331. 396. 413.
Zukal 206.

Sach-Register.

A.

Abies 109. 123. 169. 190. 370.
Abrus 270.
Abutilon 84.
Acacia 271. 272.
Acer 53. 66. 117. 388.
Acetabularia 137.
Acetylessigsäurederivate 211.
Achromatium 53.
Achyranthes 265.
Acolium 211.
Aconitin 304.
Aconitum 107. 122. 286. 304.
Acorus 146. 150.
Adiantum 366.
Adlumia 300.
Adoxa 255.
Aeschynanthus 367.
Aesculetin 187.
Aesculin 187. 188.
Aesculus 117. 164. 187.
Aethalium 109. 365.
Ätherische Öle 165.
Aethusa 107.
Äthylchlorophyllid 348. 351.
Agapanthus 368.
Agaricaceae 368.
Agaricus 107.
Agave 56. 382. 397.
Ageratum 6. 156.
Aggregation 406. 407.
Agrostemma 198.
Agrostis 137.
Airosomen 69.
Alaunbaum 45.
Albuca 362. 397.
Albumine 314.
Aldehyde 158—161. 315.
Aldehydtropfen 162.
Alectoria 212.
Alectorialsäure 206. 207.
Alectorolophus 106. 367.
Aletris 256.
Aleuron 118. 372.
Aleuronkörner, blaue 270.
Algin 354.
Alkalische Reaktion, Nachweis der 27.
— —, des Plasmas 25.
— —, Zellkerns 25.
Alicularia 398.
Alizarin 236.
Alkaloide 12. 285—313.
— von Corydalis 299.
— der Solaneen 290—293.
— — Leguminosen 295.
— — Loganiaceen 301.
— — Papaveraceen 295.
— — Rubiaceen 300.
— — Ranunculaceen 304.
— — Puringruppe 309.
— — Senfsamen 312.
— — Narzissen 313.
— — Orchideen 313.
— des Milchsaftes 295—299.
— von Veratrum 309.
Alkaloidgruppenreagentien 286—288.
Alkanna 238. 239.
Alkannin 9. 238.
Alkanninlösung 21.
Alkohole 105.
Allantoin 117.
Alliaria 141, 199.
Allium 58. 65. 116. 140. 141. 368.
Alloxan 317.
Allylsulfid 140.
Allylsenföl 142.
Alizarin 214.
Alnus 28. 66. 77.

Alocasia 84.
Aloë 161. 231—234. 255. 350.
Aloëemodin 229.
Aloin 231—234.
Aluminium 44.
Aluminiumchlorür 19.
Amarantus 90, 91. 265.
Amaryllideae 368. 370.
Ameisensäure 107.
Aminosäuren 113.
Ammobium 359.
Ammonium 65.
Ammoniumaluminiumfluorid 45.
Ammoniummagnesiumphosphat 70.
Ammoniumphosphomolybdat 70.
Ammoniak 65.
Ammonsalze 66.
Amorpha 242.
Amorphophallus 368. 370.
Ampelopsis 112. 265. 340.
Amygdalin 192.
Amygdalus 192.
Amylodextrin 385.
Amyloid 339.
Amylose 385.
Amylomycin 340.
Amylopektin 386.
Amylozellulose 386.
Anabaena 363.
Anabaenase 140.
Anabaenin 139.
Anagallis 267.
Anagyrin 295.
Anagyris 295.
Ananas 107. 112.
Analysator 33.
Anchusa 117.
Aneimia 368.
Anemone 268.
Angiopteris 55. 56. 81.
Angosaurarinde 301.
Angraecum 156.
Anilinfarbstoffe 26.
Anilinsulfat 344.
Anionen 67.
Anona 53. 149.
Anthirrhinum 267. 271. 272.
Anthochlor 271—272.
Anthoceros 379.
Anthocyan 25. 264—270. 345.
Anthocyanidine 264.
Anthophäin 270. 271.
Anthoxanthin 271.
Anthoxanthum 156.
Antimonchlorür 254.
Antipyrin 405.
Anthracenderivate 212. 229.
Anthrachinone 230.
Anthurium 184.
Apama 81.
Apigenin 226.
Apiin 226.
Apium 106. 107. 152.
Apocynum 149.
Aquilegia 267.
Araceen 193. 370.
Arbutin 185.
Arctostaphylos 185. 186.
Areca 122.
Argemone 299.
Aristolochia 81. 340.
Arnebia 239.
Artemisia 158.
Arthonia 217. 219.
Arthoniaviolett 217.
Arthrothamnus 86.
Arum 198. 279.
Arundo 81.
Asa foetida 153.
Asaron 149.
Asarum 149. 150.
Asche 9.
Aschenbild 9—11.
Asclepias 242.
Ascobolus 221.
Ascophyllum 87.
Asparagin 113. 117. 151.
Asparagus 70.
Aspergillus 69.
Asperula 78. 156. 157. 237. 242.
Asphodelus 69.
Aspicila 218.
Aspidium 45. 120.
Assimilationssekret 383.
Aster 267.
Astragalus 367.
Atranorin 206.
Atranorsäure 207.
Atriplex 265.
Atropa 111. 286. 290. 291.
Atropin 290.
Aucuba 326. 351.

Aufhellungsmethode 76.
Augenfleck 401.
Auslöschung 34.
Auslöschungsrichtung 35.
Auslöschungstiefe 35.
Auslöschungsstellung 34.
Avena 137.
Azolla 201.

B.

Bacidia 218. 219.
Bacidiagrün 218.
Bacterium 221.
— phosphoreum 95. 96.
Bactrospora 219.
Baeomyces 217.
Bakterienmethode 93.
Bakteriochlorin 221.
Bakteriopurpurin 221.
Balanophora 124.
Balanophorin 124.
Balsame 168.
Bambusa 77.
Bangia 87. 263.
Baptisia 192. 268. 295.
Baptisin 192.
Barosma 183.
Batrachospermum 263. 406.
Bechorneria 397.
Beggiatoa 68. 404.
Begonia 109. 110. 111. 267. 403.
Benzaldehyd 192.
Benzidinchlorhydrat 67.
Benzidinkupferacetat 196.
Benzochinon 115.
Benzoë 168.
Benzoësäure 153—155.
Berberin 304—307.
Berberis 304—306.
Bertholletia 374.
Beta 65.
Betula 66. 77. 155. 202.
Betulin 201. 202.
Betuloretinsäure 155.
Biatora 211, 212. 218. 359.
Bidens 359.
Bignonia 242. 367.
Bilimbia 218.
Biuretreaktion 315.
Bixa 273.
Bixin 273—274.
Blausäure 192—197.
Blasteniasäure 212.
Blastenin 207.
Blutlaugensalzprobe 41.
Blutprobe 96.
Bocconia 297. 298.
Bonnemaisonia 88.
Borrago 117.
Borodins Methode 24.
Botryophora 137.
Brasilein 228.
Brasilin 228.
Brassica 25. 57. 65. 141. 152. 186. 312.
Braunalgen 256.
Brenner 16.
Brenzkatechin 346.
Bromus 199.
Brosimum 84. 375.
Broussonetia 171.
Brucin 90. 301. 302.
Brunfelsia 293.
Bryonia 199.
Bryopsis 338. 380. 381.
Buellia 219.
Bulbochaete 401.

C.

Cactus 107.
Cäsiumalaun 44.
Caesalpinia 228.
Caladium 239. 240.
Calanthe 242. 244. 245.
Calathea 79.
Calamintha 183.
Calamogrostis 137.
Calceolaria 271.
Calcium 48.
Calciumpektat 58. 355.
Calciumtartrat 50.
Calendula 96.
Calicin 210.
Callisia 81.
Callithamnion 87.
Callopisma 213.
Callose 356—358.
Calluna 66. 185.
Callus 357.
Calomelanen 129.
Caltha 304.
Calycin 210.
Calycinsäure 205.

Calycium 211.
Calypogeia 399.
Campanula 78. 84. 78. 366. 367.
Campanulaceen 9. 170. 367.
Campelia 81.
Canadabalsam 168.
Canadin 307.
Candellaria 210.
Candollea 366. 367.
Canna 378.
Canella 107.
Capparideen 3. 186.
Capparis 58. 226.
Capsaicin 121.
Capsella 90. 91. 141.
Capsicum 121. 350. 371.
Carex 279.
Carica 325.
Carotin 252.
Carotine 252—256. 263.
Carotinartige Farbstoffe bei Pilzen 221.
Carotinkristalle 33.
Carthamus 271. 272. 359.
Carya 164.
Caryophyllus 146.
Cassia 229. 231.
Catalpa 367.
Catasetum 313.
Catechurot 177.
Catocarpus 211.
Caulerpa 338.
Cautorinde 77. 79.
Cecropia 376.
Celastrus 106.
Cellose 335.
Celtis 52. 53. 77. 239. 241.
Cenchrus 60.
Centaurea 199. 271.
Centropogon 84. 278.
Cephaëlin 300. 301.
Cephaëlis 238. 300.
Cephalaria 271.
Ceramium 87. 263.
Ceratonia 109. 149.
Ceratophyllum 201.
Ceratopteris 368.
Cerapterus 88.
Cereus 382.
Cerin 347.
Cerinsäurereaktion 348.
Cerinthe 53. 117. 378.
Ceroformiat 107.
Ceropegia 56.
Ceroxylon 123.
Cetraria 211. 343.
Cevalin 309.
Cevadillin 309.
Chamaedorea 77. 279.
Chara 54. 377. 394.
Chasmanthera 305.
Chavica 289.
Cheilanthes 128.
Cheiranthus 141. 226. 324.
Chelerythrin 297. 298.
Chelidonium 84. 296—299. 388.
Chemie und Verwandtschaft 8—12.
Chenopodium 91. 92. 117.
Chimaphila 149. 185.
Chinarot 177.
Chinin 300.
Chinolin 405.
Chinonartiger Farbstoff 221.
Chinone 162—165.
Chitin 9. 341—343.
Chitosan 342. 343.
Chiococca 238.
Chlamydomonas 401.
Chlamydomucor 343.
Chlor 82.
Chlorcalciumjod 19.
Chlorophyll 247—252.
Chlorophyllan 249. 263.
Chlorophyllase 248.
Chlorophyllkorn als Reduktionsorgan 161.
Chlorophytum 368.
Chloroplasten 377.
Chlorzinkjod 19.
Cholerareaktion, rote 240.
Chondria 87.
Chondrus 87. 263.
Chromatophoren, Einschlüsse der 365. 377—388.
Chromoplasten 377.
Chromophyton 257.
Chromsäure 20.
— -Schwefelsäure 20.
Chrysin 226.
Chrysophansäure 229. 231.
Chrysophyscin 213.
Chrysophenol 163.
Chrysothrix 210.
Chylocladia 400.

Cicer 111.
Cinchona 238. 286. 300.
Cinchonamin 90.
Cinchonidin 300.
Cinchonin 300.
Cinchotin 300.
Cineraria 57.
Cinnamomum 155. 160. 167.
Citrus 183. 184. 239. 240. 272.
Cladina 212.
Cladonia 212. 215. 219.
Cladophora 47. 249. 381.
Cladostephus 87.
Clematis 84. 198.
Clerodendron 367.
Clivia 277. 278. 313.
Closterium 43. 54. 380
Cocain 294.
Cochlearia 141. 186.
Cocconeis 47.
Cocconema 94.
Cocculus 306.
Cocos 107. 121. 122.
Codiaceen 371.
Coelocline 305.
Coelogyne 270.
Coffea 119. 238. 239. 240. 286. 310.
Coffein 405. 407.
Colchicin 308.
Colchicum 286. 308.
Colombowurzel 306.
Combretum 77. 198.
Conferva 401.
Coniferin 190. 191. 346.
Coniin 289.
Coniocybe 205.
Coniocybsäure 205.
Conium 286. 289.
Convallaria 166.
Convolvulus 367.
Copal 168.
Copaivabalsam 168.
Copernicia 123.
Coptis 305.
Corallin 352.
Corallina 87.
Cordia 117.
Cordyline 137. 382.
Coreopsis 272.
Coriamyrtin 189.
Coriaria 189.
Cornus 265.
Coronilla 242.
Cortusa 127.
— -Gift 127.
Corydalin 299. 300.
Corydalis 299. 300.
Corypha 123.
Coscinium 305.
Cosmarium 54. 381.
Cotoneaster 192. 193.
Cotylanthera 367.
Crataegus 192. 193.
Crocetin 275.
Crocin 274—276.
Crocus 271. 274. 275.
Crotolaria 242.
Croton 242.
Crucianella 237.
Cubeba 289.
Cucumis 63. 112.
Cucurbita 63. 117. 119. 316. 358.
Cumarin 6. 156. 157.
Curcuma 276.
Curcumin 276.
Cuscuta 46.
Cutin 350.
Cyanin 26. 167.
Cyanophyceen 139. 262. 264.
Cyanophycinkörner 402.
Cyanwasserstoffsäure 193.
Cyclamen 107. 405.
Cydonia 191. 353.
Cymbella 404.
Cynoglossum 357.
Cyperus 56. 78.
Cyphelium 209.
Cypripedium 120. 127. 128.
Cypripediumsekret 127. 128.
Cystein 70.
Cystolithen 10. 52. 53. 78.
Cystopus 343.
Cytase 322—323.
Cytisin 295.
Cytisus 267. 295.

D.

Dacryomyces 221.
Dahlia 56. 116. 135. 151. 269. 271. 272.
Dammar 168.
Dammara 52.
Datisca 224.

Datisceïn 224.
Datiscin 224.
Datura 290.
Daucus 61. 107. 255. 378.
Deckgläschen 14.
Deckzellen 79—80.
Deckplättchen 10.
Delesseria 87.
Delphinin 304.
Delphinium 268. 270. 304.
Dematium 340.
Dendrobium 313.
Desmanthus 201. 403.
Desmarestia 87.
Desmidiaceen 54.
Deutzia 77. 79.
Dhurrin 191.
Dianthus 198. 266. 267.
Diastase 318.
Diatomeen 76. 77. 82. 257. 356.
Diatomin 257.
Dichorisandra 278. 370. 379.
Diclytra 300.
Dicranochaete 381.
Dicranumgerbsäure 176.
Dictyota 87. 256.
Didymium 343.
Dimargaris 371.
Dimethylaminobenzaldehyd 147.
Dimorphoteca 193. 198.
Dionaea 164. 165.
Dionysia 127.
Diosma 183.
Diospyros 149. 359.
Diphenylamin 88.
Diphenylanilodihydrotriazol 90.
Dipteryx 156.
Doppelbrechung, Erkennung der 33.
Doronicum 176.
Dracaena 52. 256. 382. 397.
Draparnaldia 401.
Drosera 66. 164. 369. 405. 406. 407.
Drosophyllum 137.
Dryobalanops 168.
Dulcit 105.
Dumontia 263.

E.

Eau de Javelle 20.
Ebenholzfarbstoff 359. 360.
Echeveria 124. 177.
Echites 242.
Echium 117.
Ecklonia 86.
Eichenrot 177.
Eisen 41.
—, locker gebundenes 41.
—, maskiertes 41. 43.
— -Reaktionen 41.
— -Bakterien 43.
— -Flechten 43.
Eiweiß, aktives 406.
— -Körper 313—318.
— -Kristalle im Kern 365.
— — im Plasma und Zellsaft 368.
— — im Aleuron 372.
— -Schläuche 323.
Elachista 87.
Elaeis 120. 122.
Eläoplasten 396. 397.
Elaiosomen 120.
Elatine 201.
Elodea 47. 249. 254.
Elymus 78. 123.
Embeliasäure 163.
Emetin 300.
Emodin 182. 229. 231. 234.
Empfindlichkeit der Reaktionen 3. 4. 27.
Empfindlichkeitsgrenzen 4. 27.
Empusa 343.
Emulsin 192. 197. 325.
Endodermis 350.
Engelmannsche Bakterienmethode 93.
Enzyme 318.
Epigaea 185.
Epipogium 388.
Epiphyllum 367. 368. 369.
Equisetum 45. 279.
Eria 313.
Erica 66.
Eriobotrya 325.
Erodium 268.
Erythricum 239.
Erythrin 217.
Erythrina 295.
Erythrorhizon 239.
Erythroxylon 286. 294.
Erythrozym 235.
Eschscholtzia 298.
Essigsäure 109.
Euastrum 54.
Eucalyptus 123. 226.

Euchresta 295.
Eugenia 405.
Eugenol 76. 146.
Euglena 402.
Eupatorium 242. 278.
Euphorbia 56. 84. 124. 171. 370.
Euphrasia 242.
Evernia 206. 210. 212.
Evodia 304.
Evonymus 105. 106.
Exogonium 187.

F.

Faba 176.
Fagus 53.
Fällungen, künstliche 405—407.
Farbe, schwarze 279.
Farbstoffe 247.
— der Chromatophoren 247.
Fegatella 398.
Fehlingsche Lösung 20.
Fermente 318—326.
Ferriverbindungen 41.
Ferroverbindungen 42.
Ferula 153.
— -Säure 153.
Festuca 137.
Fette 118—122.
Fette Öle 118. 166.
Fettplatten 399.
Fettropfen 392.
Fibrosinkörper 395.
Ficus 60. 77. 78. 84. 124. 171.
Filargebilde 399.
Filixrot 177.
Filtrierpapierstreifen 16.
Fisetin 223. 226.
Flavonderivate 223. 225.
Flechtenfarbstoffe 205—220.
Flechtensäuren 205.
—, Nachweis der 206.
— der Benzolreihe 212.
— — Methanreihe 209.
Florideenrot 259.
Florideenstärke 388. 399.
Fluoreszenz 32.
Fontinalis 43. 150. 399.
Fouquiera 55.
Frankenia 84.
Frangulin 182.
Frasera 224.
Fraxin 188.
Fraxinus 77. 107. 242. 367.
Frullania 397.
Fucin 354.
Fucoidin 354.
Fucosanblasen 391—393.
Fucoxanthin 256. 257. 259.
Fucus 86. 87. 256. 402.
Fulgenia 213.
Fuligo 243.
Fumaria 300.
Funaria 399.
Funkia 397.
Furcellaria 87.

G.

Gaertnera 399.
Gagea 199. 397.
Galactodendron 60.
Galanthus 137. 358.
Galega 242.
Galeopsis 228.
Galium 78. 237. 242.
Galtonia 56. 366. 368.
Gardenia 238. 276.
Gasvakuolen 69.
Gaultheria 185.
Gaylussit 50.
Geaster 240.
Geasterin 240.
Gelbbeeren, chinesische 226.
Gelsemium 187.
Genista 295.
Genistin 226.
Gentiana 66. 223. 224. 388.
Gentiolutein 224.
Gentisin 223.
Geoffroya 304.
Geranium 165.
Gerbsäuren 172.
Gerbstoffblasen 403.
Gerbstoffe 172—177. 403. 405.
Gerbstofftropfen 403.
Gerbstoffvakuolen 403.
Geum 146.
Gialolechia 210.
Gibbaldia 176.
Gingko 122. 160.
Gipskriställchen 54.
Gipsplättchen 35.
Glasdosen 15.

Glaskapillaren 16. 32.
Glasnadeln 15.
Glasperle, schwarze 32.
Glaspipetten 16.
Glasröhren 16.
Glasstäbe 16.
Gleis 116.
Gliadine 314.
Globoide 57. 372—375.
Globularia 155. 226.
Globuline 314. 374.
Gloeocapsa 264. 273.
Gloeocapsin 273.
Gloxinia 367.
Glukoproteïde 314.
Glykogen 137—139.
Glykonasturtiin 186.
Glykoside 181—200.
Glykotropaeolin 186.
Goldfarne 128.
Goldfussia 53. 242.
Goodyera 388.
Graminin 137.
Gratiola 371.
Guajakharzlösung 319.
Guajakwasserstoffsuperoxyd 319.
Gummi 351—354.
Gummiharze 168. 169.
Gyalolechia 210.
Gymnocladus 348.
Gymnogongrus 87.
Gymnogramme 128. 129.
Gymnogrammen 128.
Gynocardia 198.
Gypsophila 197. 199.

H.

Hadromal 346.
Haemalaun 22.
Haematoxylin 43. 228.
— -Lösung nach Boehmer 21.
— — Delafield 22.
Haematoxylon 228.
Halydris 87.
Hartwegia 92. 348.
Harze 165. 168—170.
Hebeclinium 55.
Hedysarum 268.
Helianthus 92. 112. 119. 316. 359.
Helichrysin 276.
Helichrysum 272. 276. 277.
Heliconia 123.
Hemizellulosen 335. 338.
Herniaria 156.
Hesperidin 183.
Hibiscus 83. 199.
Hierochloa 156.
Hildenbrandtia 87.
Himenodictum 187.
Hippuris 367.
Hohenbergia 350.
Hoja 84.
Hololachne 55.
Holzstoff 148.
— -Reaktionen 344—346.
Holzsubstanz 344.
Homalanthus 84.
Homofluoresceïnprobe 216.
Hordeum 199.
Hyoscyamin 291.
Hyoscyamus 291.
Hyazinthus 111.
Hydnum 220.
Hydrangea 198.
Hydrastin 307—308.
Hydrastis 286. 305.
Hydrurus 259.
Hypochlorin 249.
Hyssopus 183.

I und J.

Jalape 187.
Jasminum 107. 239.
Jatropha 84. 369.
Javellesche Lauge 20.
Iberis 141.
Ignatiusbohnen 301. 302.
Ilex 286. 310.
Ilicium 122.
Impatiens 339. 370.
Indigblau 239. 241. 243—246.
Indigofera 241. 246.
Indigopflanzen 11.
Indigorot 242.
Indigotin 241.
Indigweiß 21. 97.
Indican 241—246.
Indol 239—240.
— zum Nachweis des Lignins 344.
— -Derivate 239.
Indophenolprobe 320.
Indoxyl 241. 245.

Inklusen 147. 149.
Inula 135.
Inulin 135.
Instrumente 13.
Jod 84.
Jodalkohol 17. 18.
Jodchloralhydrat 19.
Jodeosin 27.
Jodglyzerin 18.
Jodjodkalium 18.
Jodlösungen 18.
Jodphosphorsäure 19.
Jodtinktur 18.
Jodwasser 18.
Jodzinnchlorid 19.
Jonidium 137.
Ipomoea 84.
Iresine 265.
Iris 137. 388.
Irisin 137.
Isatan 241.
Isatase 246.
Isatin 246.
Isatis 11. 241. 245.
Isorhamnetin 226.
Juglans 163. 164.
Juglon 162—164. α-Hydrojuglon 163. 164.
Juglonkupfer 163.

K.

Kaffeïn 309—311.
Kalium 60.
Kaliumbioxalat 111.
Kaliummyronat 186. 324.
Kalkkarbonat 52. 69.
Kalkmalat 56.
Kalkmalophosphat 56.
Kalknachweis 48.
Kalkoxalat 50. 57. 109. 373. 374.
Kalk, pektinsaurer 57. 58.
Kalkphosphat 56.
Kalkphosphatsphärite 56.
Kalksulfat 54.
Kalmia 186.
Kampfer 167.
Kämpferol 226.
Karbonate 72.
— Bläuung durch Chlorzinkjod 336.
Kationen 41.
Kautschuk 165. 170.
Kautschuk-Kügelchen 171.
Kegelzellen 10.
Kern, Einschlüsse des 365.
—, Eiweißkristalle des 365.
Kernkörperchen 317.
Kerria 77.
Kieselkörper 79—81.
Kieselkurzzellen 10.
Kieselsäure 74.
Kieselskelette 74. 75.
Kieselzellen 81.
Kinorot 177.
Kleesalz 111.
Klopstockia 123.
Knoblauchöl 140.
Kohlensäure 53. 72.
Kohle 73.
Kohlehydrate 129.
Kohlenstoff 73.
Kompositen 9.
Kongorot 26.
Kork 347—350.
Korkreaktionen 348—349.
Kristallsystem 34.
Krynitznia 239.
Kupferoxydammoniak 19.
Kutikula 347. 350. 351.
Kutikularschichten 351.

L.

Lackmus 26. 216.
Lackmusseide 4. 26.
Ladenbergia 300. 367.
Lakkase 319.
Laminaria 85. 86. 87. 107. 256.
Laminarin 393.
Lamium 96.
Lapachol 165.
Laportea 78.
Larix 190.
Lathraea 52. 242. 365. 367. 371.
Lathyrus 266. 267.
Laurencia 401.
Laurocerasin 192.
Laurus 107. 146. 160.
Lebermoose, Ölkörper der 397—398.
Lebewesen als Reagens 4.
Lecanorarot 218.
Lecanorsäure 216.
Lecidea 218. 219.
Lecideagrün 218.

Ledum 185.
Lemanea 263.
Leontice 305.
Lepidium 141.
Lepraria 205. 206. 210. 211.
Leptomin 321—322.
Leptomitus 394.
Leucin 116.
Leucocyan 256. 257.
Leucojum 9. 137.
Leuchtbakterienmethode 95.
Leukoplasten 377. 378.
Leukosin 393.
Leukosomen 379.
Liatris 156.
Lichtseiten der Mikrochemie 3.
Lignin 344—347.
Ligustrum 107. 191. 192.
Lilium 166.
Limnanthaceen 9.
Limnanthemum 367.
Limnocharis 271.
Linamarin 193.
Linaria 183. 271. 272.
Linum 193. 353. 367.
Lipochrome 221.
Lithospermum 52. 117. 239. 357.
Loasa 78.
Lobelia 278.
Lobeliaceen 9.
Lokalisation 5.
Lonicera 255.
Lophospermum 366.
Loranthus 81.
Lotoflavin 226.
Lotus 271.
Lungenpigment 73.
Lunularia 398.
Lupe 14.
Lupinus 117. 152. 286. 295.
Luteofilin 277.
Luteolin 226.
Luzula 279.
Lycoperdon 107.
Lycopodium 340.
Lykopin 255.

M.

Macrotomia 239.
Madotheca 199.
Magnesium 58.
Magnesiumammoniumphosphat 58—59.
Magnesiumoxalat 60.
Magnolia 77. 198.
Mahonia 112. 269—270. 305.
Malaxis 388.
Mandragora 291.
Mangan 46.
Manihot 193. 326.
Mannit 105. 106.
Marattia 55. 56.
Marattiaceen 55.
Marchantia 150.
Marsilia 176.
Marsdenia 242.
Mastigobryum 398.
Matéblätter 310.
Maxillaria 397.
Medicago 267.
Megacaryon 239.
Melaleuca 405.
Melampyrum 105. 106. 242. 366.
Melilotus 156. 157.
Mentha 183.
Menyanthes 367.
Mercurialis 92. 242. 254.
Mesembryanthemum 56. 271. 350. 382.
Mesocarpus 175.
Mesophyllsekret 382—384.
Mespilus 149. 192.
Methodik 5. 13.
Methylaesculin 188.
Methylchlorophyllid 248. 251.
Methylorange 26.
Methysticinsäure 157.
Meum 107.
Micrasterias 54.
Microglena 393.
Microspora 401.
Mikrochemie, ihre Aufgabe 3.
—, — Ergebnisse 7.
Mikroelementaranalyse 31.
Mikrogramm 3.
Mikroskop 13.
Mikroskopisches Präparat, Herstellung eines 22.
Mikrosublimation 28.
— mit Asbestplatte 29.
— — Uhrglas 29.
— — Glasring 29.
— im luftverd. Raume 30.
Milchsaft, Chloride des 84.

Milchsaft, Proteïnkörner des 374.
Millons Reagens 21.
— Reaktion 315.
Mimosa 149. 200. 371. 403. 405.
Mimulus 254.
Mirabilis 271.
Mniopsis 80.
Mnium 199. 249.
Molischs Reaktion 130.
Molybdänsaures Ammon 19. 70.
Monotropa 242. 388.
Moquilearinde 77. 78.
Morin 226.
Morinda 234. 235.
Morindin 234. 235.
Morindon 235.
Moringa 325.
Morphin 298.
Morus 84. 112.
Mougeotia 381.
Mourera 80.
Mucor 343.
Munjistin 237.
Murraya 239. 240.
Musa 123. 368. 371. 382.
Myelin 121—122. 400.
Mykosin 341. 342.
Myosotis 117. 357.
Myrica 66.
Myricaria 55.
Myricetin 226.
Myriophyllin 200.
Myriophyllum 200. 201.
Myristica 122. 124.
Myronsaures Kalium 141.
Myrosin 141. 312. 323.
Myrosinkörner 325.
Myrospermum 155.
Myroxylon 155.
Myrtus 160. 240.
Myxomycetenplasmodium 26.

N.

Nadeln 15.
Nandina 305.
Narcissus 255. 313.
Narkotin 298.
Natrium 64.
Natriumfluosilikat 74.
Natriumhydrosulfit 97.
Natriumuranylacetat 64.
Nectria 221.
Nemophila 268.
Neottia 258. 378.
Nepenthes 371.
Nephromin 213.
Nerine 368. 370.
Nerium 84. 370.
Nesslers Reagens 19. 66.
Nicandra 293.
Nicotiana 290.
Nidularium 160.
Nigella 279.
Nigritella 156.
Nikolsches Prisma 33.
Nikotin 290.
Ninhidrin 113.
Nitella 376. 377.
Nitophyllum 260. 401.
Nitrate 89.
Nitrite 89.
Nitron 91.
Notochlaena 128.
Nukleïne 317.
Nukleïnsäuren 314.
Nukleoalbumine 314.
Nukleolus 317.
Nukleoproteide 314. 317.
Nuphar 371.
Nymphaea 52. 201. 405.

O.

Objektträger 14.
Ochromonas 393.
Ocimum 146.
Oedogonium 160.
Ölkörper 396. 399.
Ölplastiden 162.
Öltropfen 382.
Ölverfahren 208.
Oenanthe 107.
Olea 120.
Oligodynamin 4.
Oncidium 371. 397.
Ononis 268.
Onosma 117. 238.
Opegrapha 219.
Opium 298.
Opuntia 370.
Orceïn 215.
Orchis 66. 353.
Orcin 215.

Orcinderivate 215.
Orites 45. 46.
Orixa 304.
Orlean 273.
Ornithogalum 199. 396.
Orobus 199.
Orseille 215. 216.
Oryza 388.
Osazone 132.
Oscillaria 139. 262. 263.
Oscillarien 69.
Osmiumsäure 20.
Oxalate, gelöste 111.
Oxalis 111.
Oxalsäure 109. 111.
Oxydasen 319.
Oxygenasen 319.
Oxytropis 198.

P.

Paeonia 339.
Pagamaea 399.
Pangium 197.
Panicum 55. 60. 193. 388.
Pankreatinglyzerin 316.
Papaver 84. 266. 271. 272. 298. 299.
Paphiopedilum 379.
Paramylum 390—391.
Parietaria 77.
Parietin 213.
Parmelia 206. 212. 216. 219.
Parmeliabraun 219.
Paspalum 60.
Passiflora 371.
Paullinia 310.
Pavetta 238.
Paxillus 221.
Pedilanthus 84.
Pektine 354.
Pektinsäure 355.
Pektinstoffe 354—356.
Pektosen 355.
Peireskia 370.
Pelargonien 266.
Pelargonium 170. 266. 267. 268.
Penicillium 107.
Penium 54.
Pepsinglyzerin 316.
Peptone 314.
Perezia 359..
Perezon 163.
Peridineen-Chlorophyllin 259.
Peridineen-Farbstoffe 259.
Peridinin 259.
Perldrüsen 121.
Peroxydasen 319.
Persica 192.
Pertusaria 207. 216.
Petraea 77.
Petunia 293.
Peziza 221.
Pflanzenfarbstoffe 205.
Phalaris 137.
Phaeocyan 257.
Phaeophyceenstärke 391.
Phaeophyll 256—259.
Phalaenopsis 313. 388.
Phaeophytin 249. 250.
Pflanzenasche und Chlorzinkjod 335.
Phajus 241. 244. 245. 378.
Phaseolus 63. 92. 117. 151. 192. 194. 197.
Phenole 146.
Phenylhydrazinprobe 132.
Phialopsis 218.
Phillyrea 107.
Phlein 137.
Phleum 137.
Phlobaphene 177.
Phloroglucin 146. 147.
Phloroglucin zum Nachweis des Lignins 344.
Phloroglykotannoide 148.
Phoenix 148. 338.
Pholidota 271.
Phoshpor 70.
—, maskierter 71.
—, organischer 71.
Phosphate 71.
Phragmites 123.
Phtirusa 171.
Phykocyan 9. 262.—264.
Phykoerythrin 9. 87. 259—262.
Phykophäin 236. 392.
Phykopyrrin 259.
Phykoxanthin 256. 257.
Phyllophora 87.
Physalis 293.
Physcion 212. 213. 214.
Physoden 391.
Physostigma 294.
Phytelephas 80. 338.
Phyteuma 332. 367.

Phytol 248.
Phytolacca 265. 371.
Phytomelane 358—360.
Phytophysa 394.
Pilea 394.
Pilobolus 343. 371.
Pilzfarbstoffe 220—222.
Pilzzellulose 341.
Pimenta 146.
Pinguicula 66. 153. 366. 367.
Pinastrinsäure 211.
Pinus 153. 190.
Pinzetten 15.
Piper 112. 157. 286. 289.
Piperin 289.
Pirola 149. 185. 186. 367.
Pirus 53. 192.
Pistia 404.
Pisum 92. 117. 151.
Pitheocolobium 292.
Placodium 208. 213.-
Plagiobothrys 238.
Plasma, Einschlüsse des 365.
Plasmodiophora 343.
Plasmopara 343.
Platanus 117.
Platten, irisierende 400.
Platycodon 370.
Pleochroismus 33.
Pleopsidium 211.
Pleurotaenium 54.
Plocamium 87.
Plumaria 87.
Plumbagin 201.
Plumbago 201.
Podophyllum 304.
Podosphaera 396.
Podostemonaceen 80.
Pogostemon 146.
Polarisationsmikroskop 33.
Polarisator 33.
Polarisiertes Licht 33.
Polianthes 166.
Pollenschläuche 357.
Polygala 197. 241.
Polygonum 226. 242. 244. 245. 246. 254.
Polyides 87.
Polyphysa 137.
Polypodium 77. 107. 366. 371.
Polysiphonia 87.
Polystigma 221.
Polytrichum 176.
Pontederia 201.
Populin 190.
Populus 189.
Porphyra 87. 263.
Porphyridium 263.
Potamogeton 162. 255. 399.
Pothos 370.
Preissia 398.
Primelgift 125.
Primelmehlstaub 125.
Primula 125. 126. 271.
Prodigiosin 221.
Proteïde 313.
Proteïne 313.
Proteïnkörner 372—376.
Proteïnkristalle 378.
Proteosomen 406. 407.
Protoveratrin 308.
Prulaurasin 192.
Prunus 156. 157. 192. 194. 195. 196. 325.
Pseudoindican 242.
Pseudomonas 53.
Psichohormium 43.
Psilotum 340. 397.
Psychotria 236.
Pterocarya 164.
Pulmonaria 117. 358.
Pulvinsäurederivate 209.
Punica 107. 286.
Purin 309.
Purpurbakterien 69. 221.
Purpurin 236.
Pyrenoide 380—382. 392.

Q.

Quercetin 226.
Quercitrin 226.
Quercus 77.
Quillaja 51. 52. 197.

R.

Radula 398.
Ramalina 212.
Raphanus 141. 324.
Raphiospora 211.
Rasiermesser 15.
Raspailsche Reaktion 315.
Reagens, das lebende 4.
Reagentien 16. 24.
Reaktion des Zellinhaltes 25.

Reaktionen 5.
—, Eindeutigkeit der 6.
—, Mangel an 7.
—, Einübung der 24.
Reaumuria 55.
Reif 123.
Reinheit der Reagentien 24.
Remigia 90.
Remija 300.
Reseda 255. 273.
Resedaceen 8.
Resinogene Membranschicht 170.
Rhamnetin 226.
Rhamnus 148. 182. 231.
Rhein 231.
Rheum 111. 230. 231.
Rhinanthocyan 242.
Rhinanthus 242.
Rhipsalis 382.
Rhizocarpon 211. 212.
Rhizoidengrün 218.
Rhizokarpsäure 211.
Rhizopus 343.
Rhodankalium zum Nachweis des Eisens 42.
Rhodankobalt 345.
Rhodobacillus 222.
Rhodocladonsäure 212. 215.
Rhodomela 87.
Rhodospermin 259.
Rhus 112. 124. 265. 320.
Ribes 192. 193. 279.
Ricinus 123. 372.
Rivina 367.
Rivularia 160.
Robinia 56. 191.
Robinin 226.
Roccella 216. 217.
Rochea 78.
Rohrzucker 131.
Rosa 255. 268.
Rosaceen 326.
Rosolsäure 26.
Ruberythrinsäure 9. 236—238.
Rubia 78. 235. 242
Rubiaceen 9.
Rubiadin 235.
Rudbeckia 359.
Rübenrot 265.
Ruellia 53. 241.
Rumex 111. 231.
Ruß 73.
Russelia 366.
Ruta 226.
Rutheniumrot 351. 354.
Rutin 226.

S.

Saccharomyces 343.
Saccharum 56. 123.
Sachssche Jodprobe 387.
Safflorgelb 272.
Safran 274.
Sagedia 218.
Salicin 189.
Salicornia 65. 111.
Salicylsäure zum Nachweis des Eisens 43.
Salicylsaures Natrium-Kresol 19.
Salix 189.
Salpetersäure 88.
Salpetrige Säure 88.
Salpiglossis 293.
Salsola 111.
Salvia 122.
Sambucus 96. 160. 193. 326. 336.
Sambunigrin 193.
Sanchezia 242.
Sanguinaria 296. 297.
Sanguinarin 295. 297.
Sanseviera 256.
Santonin 158.
Sapindus 109. 198.
Sapium 84.
Saponaretin 199.
Saponaria 197. 199.
Saponarin 198. 199. 226.
Saponin 197.
Saprolegnia 343.
Sarcanthus 346.
Sarcogyne 219.
Sargassum 86.
Satureja 183.
Sauerstoff 93.
Saure Reaktion, Nachweis der 25—28.
Säuren 107. 150.
Saxifraga 52. 77. 201.
Scapania 399.
Schaefferia 106.
Schenckia 278.
Schiffsches Reagens 22. 158.
Schleime 351—354.
Schleimvakuolen 402. 403.

Schizosaccharomyces 340.
Schizosiphon 273.
Scilla 368.
Schulzes Mischung 20.
Schwebekörperchen 69.
Schwefel 67.
Schwefelammonium zum Nachweis des Eisens 43.
Schwefelbakterien 67—69.
Schwefelverbindungen, organische 140.
Schweizersches Reagens 19.
Scillin 137.
Scopolia 291.
Scorzonera 107.
Scrophularia 106. 183.
Scutellaria 227. 228.
Scutellarein 227.
Scutellarin 9. 227. 228.
Scytonema 263. 273. 279.
Scytonemin 273.
Secale 123.
Sedum 177.
Segestria 219.
Selaginella 255. 340.
Selensäure 254.
Sempervivum 109. 123.
Senecio 57. 96.
Senega 198.
Senföle 141.
Senfölglykoside 186.
Sennah 29. 231.
Serapsis 388.
Sericographis 241.
Serratula 277.
Serratulin 277.
Setaria 60.
Sherardia 78. 237. 249.
Siebröhren 356—357.
Silberabscheidung 406.
Silberchlorid 82.
Silberfarne 128.
Silbernitrat 82. 83. 197. 325.
Silberoxalat 109.
Silicium 74.
Sinalbin 186. 312.
Sinapin 312.
Sinapis 43. 91. 186. 312.
Sinigrin 8. 186. 324.
Sinistrin 137.
Sisyrinchium 370.
Skalpelle 15.
Skatol 240. 241.
Skoparin 227.
Skopoletin 188.
Soja 56. 117.
Solanin 291.
Solanum 65. 91. 92. 112. 151. 291. 292. 371.
Solorina 214.
Solorinsäure 213. 214.
Sonchus 84.
Sophora 226. 242. 293.
Soranjidiol 234. 235.
Sorbit 106.
Sorbus 29. 53. 148. 192. 255.
Sordaria 340.
Sorghum 192. 388.
Spartium 295.
Spergula 201.
Spergulin 201. 202.
Spermococe 238.
Spermothamnion 87. 88.
Sphacelaria 87.
Sphaeranthus 359.
Sphaeromphale 219.
Sphaeria 340.
Sphagnol 150.
Sphagnum 150. 270.
Spilanthes 242.
Spinacia 65. 96.
Spiraea 189. 197.
Spirillum 94. 404.
Spirogyra 173. 176. 249. 380. 381. 405. 406.
Spironema 379.
Spodogramm 9—11.
Stachelkugeln 376.
Stachys 151.
Stärke 384—388.
—, lösliche 198.
Stärkeherde 381.
Stärkekörner im polarisierten Lichte 34.
—, rote 388.
Stanhopea 388.
Stapelia 56.
Staphylococcus 221.
Statice 52. 84. 277.
Stegmata 10. 73.
Sterculia 310. 312.
Sticta 160.
Stictaurin 210.
Stictina 210.

Stiftfläschchen 15.
Stigeoclonium 402.
Stigma 402.
Strelitzia 123. 382.
Strobilanthus 243.
Strontiumacetat 72.
Strontiumkarbonat 72.
Strontiumoxalat 109.
Struthantus 171.
Strychnin 302—304.
Strychnos 286. 302—304.
Suberin 347—350.
Sublimation 28—32.
Substanzökonomie 4.
Sudan 119. 349.
Swertia 388.
Symphytum 118. 353. 357.
Symplocos 45. 46.
Synchytrium 343.
Syncrypta 402.
Synura 402.
Syringa 106. 191. 192.
Syringenin 191.
Syringin 191.

T.

Tabaschir 77.
Taenionema 401.
Tagetes 359.
Tamaricaceae 54.
Tamarindus 109. 112.
Tamarix 52. 55. 84.
Tannin zum Nachweis des Eisens 43.
Taraxacum 28.
Taxin 313.
Taxus 52. 313.
Teakholz 57.
Tecoma 165. 367.
Tecophilea 370.
Tectona 57.
Terminalia 84.
Terniola 80.
Terpene 165—168.
Tetmemorus 54.
Tetrapapier 320.
Teucrium 228.
Thalictrum 192. 327.
Thallin 344.
Thalloacetat 82.
Thallochlorid 82.
Thalloidimagrün 218.
Thea 286. 310.
Telephora 220.
Thelephorsäure 220.
Thelochistes 213.
Theobroma 310. 311.
Theobromin 311.
Thermopsis 294.
Thlaspi 141.
Thottea 81.
Thuja 52. 123.
Thymus 228.
Tilia 240.
Tod der Zelle 6.
Toddalia 304.
Tolypothrix 160.
Tonerdekörper 46.
Tormentillrot 177.
Trachelomonas 43.
Trapa 43.
Tradescantia 90. 379. 405.
Tramates 220.
Trianea 26.
Trichomanes 79.
Trichomsekrete 125.
Trichopilia 371.
Trimethylamin 27.
Trisetum 137.
Tristicha 80.
Triticin 137.
Triticum 107. 137. 254.
Trommersche Probe 130.
Tropaeolin 26.
Tropaeolum 151. 255. 339.
Tropfläschchen 15.
Tryptophan 117.
Tulipa 124. 406.
Tunica 198.
Tyrosin 150—153.
Tyrosinase 319.

U.

Ulex 294.
Ulmus 53. 77.
Ulothrix 381. 402.
Ulva 381.
Urceolaria 217.
Urcellariarot 217.
Urginea 137.
Uroglaena 402.
Urtica 3. 78. 91. 92. 109. 367.
Usnea 160. 212. 341.

Usnein 341.
Usninsäure 211.
Utensilien 13.
Utricularia 153. 242. 366.

V.

Vaccinium 149. 153. 185. 186.
Vaillantia 242.
Vallisneria 47.
Vanda 371.
Vanilla 161. 396.
Vanillin 161. 346.
Vanillinsalzsäure 138. 146.
Vaucheria 109. 382. 383. 395.
Veratrin 309.
Veratrum 286. 309.
— -Alkaloide 309.
Verbascum 133. 271. 272.
Verbena 367.
Verdauung durch Fermente 317.
Verholzte Membranen 343.
Verholzung 343.
Verkorkte Membranen 347—350.
Verkorkung 347—350.
Veronica 96.
Verrucaria 219.
Verseifung 119.
Verwandtschaft und Chemie 8—12.
Viburnum 326.
Vicia 116. 151. 271. 279.
Viola 226. 279. 326.
Visnea 240.
Vitis 66. 112. 265. 358. 372. 374.
Vitexsin 226.
Volutin 404—405.
Vulpinsäure 209.

W.

Wachs 123.
Wachsüberzug 123.
Waid 9.
Waifa 226.
Wasserkelch 123.
Wasserstoffsuperoxyd 97.
Weinrot 265.
Weinsäure 111.
Wimmeria 170.
Wrightia 241.
Wundgummi 354.
Wursters Papier 320.

X.

Xanthium 359.
Xanthonderivate 223.
Xanthophyll 252.
Xanthoproteïnsäure-Reaktion 314.
Xanthorhamnetin 226.
Xanthoria 213.
Xanthorhiza 305.
Xanthotrametin 220.
Xanthoxylon 304.
Xylophilin 147.

Y.

Yucca 137.

Z.

Zebrina 379.
Zeitökonomie 5.
Zellhaut 335—360.
Zellkern mit Proteïnkristalloiden 365 bis 368.
Zellsaft, Einschlüsse des 365.
Zellulin 394—396.
Zelluloid 14.
Zellulose 335.
—, echte 335—338.
— -Gruppe 335—341.
— -Körner 394.
— -Kristalle 337.
Zimtrot 177.
Zimtsäure 155.
Zucker 129.
Zuckerreaktionen 129—134.
Zusammensetzung, komplexe der Zelle 6.
Zygnema 384. 403.

Professor Freudenberg schreibt über Molisch's Mikrochemie in „Die Naturwissenschaften" 1922, Nr. 9: „. . . Doch nicht nur durch seine eigenen Entdeckungen spricht Molisch als Forscher unmittelbar zum Leser; er hat auch die meisten Ergebnisse anderer, wie er im Vorworte mitteilt, selbst nachgeprüft. Daher durchzieht das ganze Werk der lebendige Geist eigenster Erfahrung: so schenkt Molisch dem dankbar Lernenden außer überreicher Anregung auch ein Dokument echter Naturforscherarbeit."

Weitere Schriften von

Hans Molisch

Verlag von Gustav Fischer in Jena

Grundriß einer Histochemie der pflanzlichen Genußmittel. Mit 15 Holzschnitten im Text. 65 S. gr. 8° 1891 Gr.-Z. 2.—

Die Pflanze in ihren Beziehungen zum Eisen. Eine physiologische Studie. Mit einer farbigen Tafel. VIII, 119 S. gr. 8° 1892 Gr.-Z. 3.—

Untersuchungen über das Erfrieren der Pflanzen. Mit 11 Holzschnitten im Text. VIII, 73 S. gr. 8° 1897 Gr.-Z. 2.50

Studien über den Milchsaft und Schleimsaft der Pflanzen. Mit 33 Holzschnitten im Text. VIII, 111 S. gr. 8° 1901 Gr.-Z. 4.—

Die Purpurbakterien nach neuen Untersuchungen. Eine mikrobiologische Studie. Mit 4 Tafeln. VII, 95 S. gr. 8° 1907 Gr.-Z. 5.—

Zentralblatt für Physiologie, Bd. 22, Nr. 1: . . . Ein glänzendes Werk, das unser Wissen über diese merkwürdigen Organismen sehr erweitert und in physiologischer und bakteriologischer Hinsicht eine reiche Fülle neuer Resultate bietet.

Das Warmbad als Mittel zum Treiben der Pflanzen. Mit 12 Abbildungen im Text. VI, 38 S. gr. 8° 1909 Gr.-Z. 1.20

Die Eisenbakterien. Mit 3 Chromotafeln und 12 Abbildungen im Text. VI 84 S. gr. 8° 1910 vergriffen.

Leuchtende Pflanzen. Eine physiologische Studie. Zweite, vermehrte Auflage. Mit 18 Abbildung. im Text und 2 Tafeln. VIII, 200 S. gr. 8° 1912 Gr.-Z. 7.50

Die Naturwissenschaften 1913, Heft 5: . . . Es muß ganz besonders darauf hingewiesen werden, daß nicht nur der für physiologische Forschungen interessierte Fachmann, sondern auch jeder Laie, der an interessanten Naturerscheinungen nicht gleichgültig vorübergeht, hier eine Fülle von Aufklärungen und Anregungen zu eigenen Beobachtungen findet. A. Nestler.

Pflanzenphysiologie als Theorie der Gärtnerei. **Für Botaniker, Gärtner, Landwirte, Forstleute und Pflanzenfreunde.** Fünfte, neubearbeitete Auflage. Mit 150 Abbildungen im Text. X, 337 S. gr. 8° 1921 Gr.-Z. 6.—, geb. 9.—

Anatomie der Pflanze. Zweite, neubearbeitete Auflage. Mit 139 Abbildungen im Text. VI, 153 S. gr. 8° 1922 Gr.-Z. 2.70, geb. 4.50

Populäre biologische Vorträge. Zweite, durchgesehene und erweiterte Auflage. Mit 71 Abbildungen im Text. VII, 306 S. gr. 8° 1922 Gr.-Z. 3.—, geb. 5.50

Der Preis für die angezeigten Bücher ergibt sich durch Vervielfältigung der hinter dem Titel stehenden Grundzahl (Gr.-Z.) mit der jeweils geltenden und je nach dem Markwert sich verändernden Schlüsselzahl (S.-Z.). Die für gebundene Bücher sich ergebenden Preise sind nicht verbindlich. Bei Lieferung nach dem Ausland erfolgt Berechnung in der Währung des betr. Landes.

Die botanische Mikrotechnik. Ein Handbuch der mikroskopischen Arbeitsverfahren von Dr. **Hans Schneider.** Zweite Auflage des gleichnamigen Werkes von Prof. Dr. A. Zimmermann. Mit 220 Abbildungen im Text. XII, 458 S. gr. 8° 1922 Gr.-Z. 7.50, geb. 10.50

Inhalt: 1. Das Mikroskop und sein Gebrauch. Allgemeine Mikrotechnik. Die Freihandtechnik. Das Töten und Aufbewahren pflanzlicher Objekte. Die Mikrotomarbeit. Das Färben der Präparate. Das Einschließen der Präparate. Allgemeine Methoden der Verwertung von Präparaten. — 2. Die wichtigsten qualitativ mikrochemischen Verfahren zum Nachweis von Pflanzenstoffen. Allgemeines. Organischer Teil. Anorganischer Teil. — 3. Die Zellwand. Allgemeines. Die einzelnen Zellwandstoffe. — 4. Der Protoplast und seine Einschlüsse. Allgemeines. Der Zellkern und seine Einschlüsse. Zentriolen. Das Plasma. Die Chromatophoren und ihre Einschlüsse. Andere eiweißartige Plasmaeinschlüsse. Ölige und gerbstoffhaltige Plasmaeinschlüsse. Einige andere Plasmaeinschlüsse bei niederen Pflanzen. — 5. Besondere Methoden zur Untersuchung von Vertretern der verschiedenen Pflanzengruppen; die wichtigsten Kulturverfahren.

Morphologie und Biologie der Algen. Von Dr. **Friedrich Oltmanns,** Prof. d. Bot. an der Univers. Freiburg i. Br. Zweite, umgearbeitete Auflage.

Erster Band: **Chrysophyceae — Chlorophyceae.** Mit 287 Abbildungen im Text. VI, 459 S. gr. 8° 1922 Gr.-Z. 7.50, geb. 10.50

Inhalt: 1. Chrysophyceae. — 2. Heterocontae. — 3. Cryptomonadales. — Euglenaceae. — 5. Dinoflagellata. — 6. Conjugatae. — 7. Bacillariaceae. — 8. Chlorophyceae (Volvocales, Protococcales, Ulotrichales, Siphonocladiales, Siphonales). Charales.

Zweiter Band: **Phaeophyceae — Rhodophyceae.** Mit 325 Abbild. im Text. IV, 439 S. gr. 8° 1922 Gr.-Z. 8.—, geb. 11.—

Inhalt: 9. Phaeophyceae (Ectocarpales, Sphacelariales, Cutleriales, Laminariales, Tilopteridales, Dictyotales, Fucales). — 10. Rhodophyceae (Aufbau der vegetativen Organe, Fortpflanzung).

Zeitschrift für Physiologie, Bd. VII, Heft 2/3: . . . Jedem, der über Algen arbeitet, wird dieses großangelegte Werk ein unentbehrlicher Wegweiser sein.

Österreich. botan. Zeitschr. 1905, Nr. 12: . . . eine ungemein wertvolle Zusammenfassung der die Algen betreffenden morphologischen, entwicklungsgeschichtlichen und ökologischen Kenntnisse.

Naturwissenschaftl. Wochenschrift vom 28. Januar 1906: . . . ein mustergültiges Kompendium für jeden, der sich um Algen kümmert oder etwas wesentliches von ihm zu erfahren wünscht.

Die Cucurbitaceen. Von Prof. Dr. **A. Zimmermann,** Wolfenbüttel.

Heft 1: **Beiträge zur Anatomie und Physiologie.** Mit 95 Abbildungen im Text. VIII, 204 S. gr. 8° 1922 Gr.-Z. 6.—

In diesem Werke hat der am Landwirtschaftlichen Institut Amani in Deutsch-Ostafrika 18 Jahre tätig gewesene Verfasser die Ergebnisse seiner Untersuchungen über die Familie der Cucurbitaceen niedergelegt. Die Untersuchungen erstrecken sich auch auf anatomische, physiologische, morphologische, biologische und pathologische Fragen, deren Bearbeitung besonders dadurch wertvoll ist, daß der Verfasser die meisten Arten auf der Versuchsstation des Instituts heranzüchten und in den verschiedenen Entwicklungsstadien beobachten konnte. Die Arbeit beschränkt sich nicht nur auf die in Ostusambara wild wachsenden Arten, sondern auf alle dem Verfasser in der ganzen Kolonie zugänglichen Cucurbitaceen.

Heft 2: **Beiträge zur Morphologie, Anatomie, Biologie, Pathologie und Systematik.** Mit 99 Abbild. im Text. IV, 185 S. gr. 8° 1922 Gr.-Z. 8.—

Inhalt: 1. Zur Morphologie der vegetativen Organe. 2. Zur Morphologie der reproduktiven Organe. 3. Die Trichome der Blüten. 4. Die Farbstoffe der reproduktiven Organe. 5. Zur Blütenbiologie. 6. Das Verhalten des trachealen Systems an Wundflächen. 7. Über tierische Schädlinge. 8. Fütterungsversuche. 9. Beschreibung neuer Arten und Varietäten.

DRUCK VON ANT. KAMPFE, JENA.